Die Bestimmung von Blei, Kupfer, Zink u. Milchsäure mittels stufenphotometrischer Messungen.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Johann Wolfgang Goethe-Universität

in Frankfurt am Main.

Vorgelegt von

JOHANN HABERSTOCK

aus Mainz.

Frankfurt am Main

1937.

Ludwig Baum, Frankfurt a. M., Reineckstrasse 17–19.

Referent: Dr. phil. habil. R. STROHECKER

Korreferent: Prof. Dr. H. DIETERLE

Tag der mündlichen Prüfung: 31. Mai 1937

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

MEINER

MUTTER!

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
A. Einleitung	2
B. Die Bestimmung des Bleies	5
1. Aufstellung der Farbkurve	5
2. Herstellung der Reagenzlösung	6
3. Aufstellung einer Bleikurve	6
4. Versuche zur Bestimmung des Bleies neben Kupfer, Eisen, Mangan, Zink und vierwertigem Zinn	8
5. Arbeitsgang zur Bestimmung des Bleies in Gegenwart von Kupfer, Eisen, Mangan, Zink und vierwertigem Zinn	10
6. Anwendung der Methode auf die Bleibestimmung in Leitungswasser, Mineralwasser und Limonaden	13
7. Anwendung der Methode zur Bestimmung von Blei in Urin	15
C. Die Bestimmung des Kupfers	17
1. Aufstellung der Kupferkurve und des Arbeitsganges	18
2. Die Bestimmung von Kupfer neben Blei und anderen Metallen	19
3. Anwendung der Methode auf die Bestimmung von Kupfer in Leitungswasser, Mineralwasser und Limonaden	20
4. Die Bestimmung von Kupfer und Blei in einem Arbeitsgang	21
5. Anwendung der Methode zur Bestimmung des Kupfers in Lebensmitteln	22
D. Die Bestimmung des Zinks	23
1. Aufstellung der Zinkkurve	23
2. Die Entfernung der störenden Metalle und Aufstellung des endgültigen Arbeitsganges	25
3. Anwendung der Methode auf die Bestimmung von Zink in Leitungswasser, Mineralwasser und Limonaden	26
E. Die Bestimmung von Zink, Kupfer und Blei nebeneinander in einem Arbeitsgang	28
F. Die kolorimetrische Bestimmung der Milchsäure	31
1. Die Aufstellung der Milchsäurekurve und des Arbeitsganges	31
2. Anwendung der Methode zur Bestimmung der Milchsäure in Limonade (Chabeso)	33
3. Anwendung der Methode zur Bestimmung der Milchsäure in Wein	34
4. Anwendung der Methode zum Nachweis der Neutralisation der Milch	35
Literaturverzeichnis	40

In den letzten Jahren ist eine grosse Anzahl von Arbeiten veröffentlicht worden, bei denen zu genauen kolorimetrischen Bestimmungen das Stufenphotometer herangezogen wurde. Durch diese Arbeiten ist der Beweis erbracht, dass es möglich ist, kleinste Mengen des zur Untersuchung vorliegenden Stoffes stufenphotometrisch einwandfrei zu ermitteln. In der nachfolgenden Arbeit soll nun versucht werden die Metalle Blei, Kupfer und Zink in kleinen Mengen, möglichst in einem Untersuchungsgang mit Hilfe des Stufenphotometers und unter Verwendung von Dithizon in Trinkwasser und anderen Lebensmitteln zu bestimmen und ein Verfahren auszuarbeiten, den Milchsäuregehalt einer Lösung durch stufenphotometrische Messung festzustellen.

Bestimmung von Blei, Kupfer und Zink.

A. Einleitung.

Zur quantitativen Bestimmung von kleinen Mengen Metallen sind sowohl gravimetrische als auch kolorimetrische Verfahren in grosser Zahl ausgearbeitet worden. Eine besondere Bedeutung hat die Bestimmung kleiner Mengen der Metalle in der Wasserchemie. Hier haben sich aber bis jetzt hauptsächlich die kolorimetrischen Verfahren nach L. W. Winkler (1) mit den Abänderungen von C. Reese und J. Drost (2) und L. Grünhut (3) behauptet. L. W. Winkler, C. Reese und J. Drost bestimmten das Blei, indem sie durch Zugabe von Schwefelwasserstoffwasser oder Natriumsulfidlösung eine auf kolloidal gelöstem Blei beruhende Braunfärbung erzeugten, die sie im Hehnerzylinder gegen eine Vergleichslösung von bekanntem Bleigehalt messen. Die Bestimmung des Kupfers wird gleichzeitig neben Blei durchgeführt, indem zuerst der Gesamtgehalt an Blei und Kupfer in der obigen Weise bestimmt und dann nach Maskierung des Kupfers durch Kaliumcyanid die Bleimenge durch Wiederholung der Bestimmung ermittelt wird. Die Disserenz bei der Bestimmung entspricht dem Kupfergehalt. Eine Bestimmung von Kupfer in bleifreiem Wasser wird nach Winkler und Grünhut (3) durch Zusatz von Kaliumferrozyanidlösung durchgeführt, hierbei tritt eine Rotfärbung auf. Durch Zutropfen von Kupfersulfatlösung aus einer Bürette zu entsprechend vorbehandeltem destillierten Wasser, versucht man zu dem gleichen Farbton zu kommen und berechnet dann aus der Anzahl Kubikzentimeter verbrauchter Kupfersulfatlösung den Kupfergehalt des Wassers. Die Bestimmung des Zinks wird meist gravimetrisch auch nach L. W. Winkler und L. Grünhut (3) ausgeführt indem man das Metall nach Ausfällen von Blei und Kupfer aus essigsaurer-ammonacetatgepufferter Lösung als Zinksulfid ausfällt und dann gravimetrisch bestimmt.

Alle diese Verfahren zeigen grosse Nachteile, die teils darauf beruhen, dass die Fällung nicht quantitativ ist, teils darauf, dass beim Vergleich der Farbtöne Ablesefehler entstehen und schliesslich darauf, dass sie nicht eindeutig genug sind. Es erschien daher notwendig, ein anderes Verfahren zur Bestimmung kleiner Mengen Metalle in Trinkwasser sowie in Lebensmitteln anderer Art auszuarbeiten, insbesondere versprach dabei die Verwendung des Stufenphotometers Erfolg.

Zur Auswertung eines kolorimetrischen Verfahrens zwecks Bestimmung von Blei, Kupfer und Zink in Trinkwasser auf stufenphotometrischem Wege, wurde zunächst eine Arbeit zugrunde gelegt die von H. Fischer und Grete Leopoldi (4) in den wissenschaftlichen Veröffentlichungen aus dem Siemens Konzern 1933 bekannt gegeben wurde. Sie bestimmten das Blei mit Hilfe eines sehr empfindlichen Reagenzes, nämlich Dithizon (Diphenylthiocarbazon). Dieses Reagenz besitzt die Eigenschaft in neutralen Lösungen mit Blei eine rotgefärbte lösliche Komplexverbindung einzugehen, die nach dem Ansäuern mit Salzsäure sofort in grün umschlägt. Die Grünfärbung kann dann mit Hilfe des Hellige-Keil Kolorimeters gemessen wer-

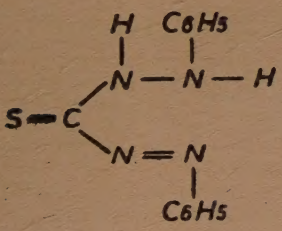
den. Durch Zugabe von Kaliumzyanidlösung ist es hierbei möglich, Färbungen die durch andere Metalle hervorgerufen werden können in der Hauptsache auszuschalten, da das Kaliumzyanid die Metalle ausser Blei und zweiwertigem Zinn komplex in Lösung hält. Auch die Bestimmung von Kupfer und Zink erfolgte mittels Dithizon.

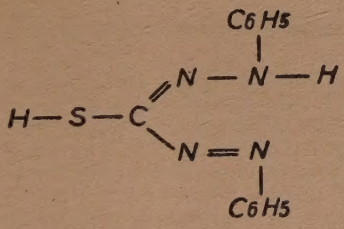
Die Aufgabe dieser Arbeit soll es nun zunächst sein, eine Bestimmung von Blei, Kupfer und Zink in Trinkwasser und anderen Wässern, zum Beispiel Mineralwasser, Limonaden und auch in Lebensmitteln nach obiger Methode umzugestalten und eine brauchbare Arbeitsmethode zu finden, die gestattet genaue Messungen im Stufenphotometer vorzunehmen. Die Ermittlung der Farbwerte mit dem Hellige – Keil Kolorimeter nach H. Fischer und G. Leopoldi (4) kann keinen Anspruch auf Genauigkeit erheben.

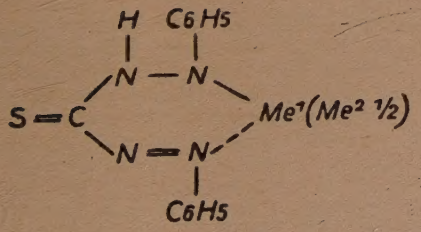
Allgemeines über Dithizon und seine Reaktionen mit Metallen.

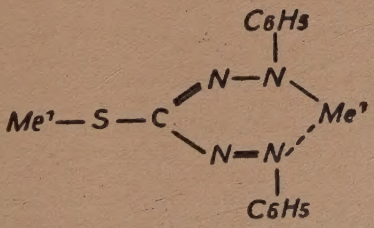
Dithizon ein Abkömmling des Thioharnstoffes vermag mit vielen Metallen Komplexverbindungen einzugehen, wobei die Art der Schwefelbindung des Dithizons eine grosse Rolle spielt. H. Fischer (5) gibt an, dass der Schwefel in der einen Form der Dithizonkomplexe wahrscheinlich mit beiden Valenzen an das Kohlenstoffatom gebunden sei (Ketoform), während er im andern Fall mit einer Valenz noch ein Wasserstoff- bezw. einwertiges Metallatom gebunden hielte (Enolform.

Formel des Dithizons:









Formel des Dithizonkomplexes:

Die Ketoformen sind meist beständig in saurer oder neutraler Lösung und werden durch Laugen zersetzt, wobei sie sich in die Enolformen umwandeln unter Abgabe von freiem Dithizon. Umgekehrt verhalten sich die Enolformen, die mit Säuren in Ketoverbindungen umgewandelt werden unter Abspaltung von Metallionen. Die grössere Rolle spielen für analytische Zwecke die Ketokomplxe, da sie für ein Metallatom im Gegensatz zu den Enolverbindungen die doppelte Zahl Dithizonmoleküle gebunden halten und auch in organischen Lösungsmitteln wie Tetrachlorkohlenstoff löslich sind. Da bei verschiedener Reaktionseinstellung auch die Reaktionsfähigkeit der Dithizonkomplexe eine verschiedene ist, so hat man diese Eigenschaft als Grundlage zum Ausbau spezifischer Nachweise von Metallen genommen. Durch Zyanionen zum Beispiel werden alle Schwermetallionen so komplex gebunden, dass keine Reaktion mehr mit Dithizon eintritt. Eine Ausnahme bilden hierbei Blei, Kobalt, Nickel, Kadmium und zweiwertiges Zinnn. Diese Tatsache ist auch zur Bestimmung des Bleies in der folgenden Arbeit benutzt worden.

Beständig gegen Mineralsäuren sind nur die Ketoverbindungen der Metalle in der Reihe von Palladium bis Kupfer. Auch diese Erkenntnis wurde zur Bestimmung des Kupfers verwertet.

Zur Bestimmung von Metallen auf qualitativem sowohl als auch quantitativem Wege werden die zu untersuchenden Lösungen mit Dithizon-Tetrachlorkohlenstofflösung ausgeschüttelt, das heisst extrahiert, im Stöpselzylinder gesammelt, vom überschüssigen Dithizon mit schwach ammoniakalischem Wasser befreit, angesäuert und dann kolorimetriert.

Kolorimetrische Bestimmungen mit Hilfe des Stufenphotometers.

Ueber den Aufbau und den Gebrauch des Stufenphotometers finden sich Angaben in dem Handbuch von A. Bömer, A. Juckenack und J. Tillmans (6) in einer Broschüre der Zeisswerke (7), ausserdem berichten H. Keller (8) und K. Breitwiser (9) Näheres darüber. Von grosser Bedeutung ist eine Neuerung des Apparates, die wie K. Breitwieser (9) schon erwähnt, gestattet, Farblösungen allein, gegen Luft, gegen Wasser, oder gegen das angewandte Lösungsmittel zu messen.

Das Messen der gefärbten Lösungen:

Um die Stärke der Färbung einer Lösung im Stufenphotometer zu bestimmen, ist es nötig, das für die Farbe am besten geeignetste Filter, das heisst, das Filter zu finden, das die grösste Lichtabschwächung zeigt (Aufstellung der Farbkurve). Hat man dieses gefunden, so ist die Lichtdurchlässigkeit D des Photometers bedingt durch die Schichtdicke der Farblösung und die Konzentration derselben. Durch Aufstellen empirischer Eichkurven oder bei Eintritt des Lambert-Beer'schen Gesetzes auf rechnerischem Wege (dieses besagt, dass die Extinktionskoeffizienten direkt proportional den Konzentrationen zweier Lösungen sind) kann man dann den Gehalt der färbenden Substanz ermitteln.

B. Die Bestimmung des Bleies.

Die kolorimetrische Bestimmung des Bleies stützt sich zunächst wie schon erwähnt auf die von H. Fischer und G. Leopoldi (4) veröffentlichte Arbeit. Hierin wird folgendes angegeben:

Eine Bleilösung von etwa 0,5 – 0,6 γ wird mit verdünntem Ammoniak neutralisiert und auf je 10 ccm Lösung mit 5 ccm Kaliumzyanidlösung versetzt. Man gibt 5 ccm des Reagenzes (6 mg Dithizon in 100 ccm CCl_4) zu der Bleilösung und schüttelt im Scheidetrichter gut durch. Dann trennt man die nunmehr rotgefärbte Tetrachlorkohlenstofflösung ab und verfährt mit abermaligem Ausschütteln solange, bis die neu zugesetzte Reagenzlösung nicht mehr rotgefärbt sondern rein grün erscheint. Die rotgefärbten Blei-Tetrachlorkohlenstofflösungen, die man im Schütteltrichter sammelt, werden mit verdünnter wässeriger Ammoniaklösung (1%) mehmals geschüttelt um das überschüssige Dithizon zu entfernen. Man trennt abermals im Scheidetrichter von der Waschflüssigkeit, füllt die so gereinigte Blei-Tetrachlorkohlenstofflösung mit reinem Tetrachlorkohlenstoff auf ein bestimmtes Volumen auf (15 ccm), säuert mit Salzsäure (1:5) an und schüttelt gut durch. Es tritt sofort eine Grünfärbung ein, die dann mit Hilfe einer Vergleichslösung (eine Bleilösung bekannten Gehaltes auf dieselbe Weise behandelt) im Hellige–Keil Kolorimeter gemessen wird.

1.) Aufstellung der Farbkurve.

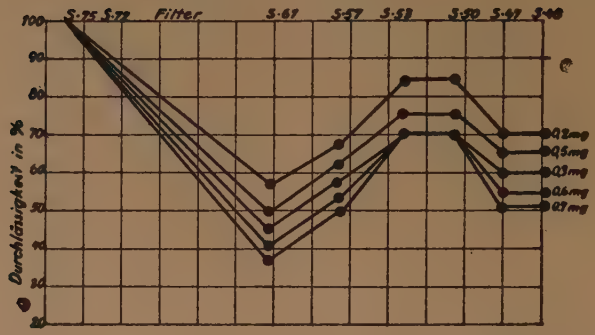
Um eine für das Stufenphotometer geeignete kolorimetrische Methode zu finden, musste zunächst eine Farbkurve aufgestellt werden, das heisst, das günstigste Spektralfilter musste gefunden werden. Zu diesem Zweck wurden reine Bleilösungen von 0,1–0,7 mg/l (hergestellt aus Bleichlorid gelöst in doppelt destilliertem Wasser) genau nach obiger Arbeitsweise behandelt und die grüne Endfärbung gemessen. Die Werte sind in folgender Tabelle festgelegt:

Tabelle 1.

Angewandte Flüssigkeitsmenge 100 ccm.

		Lichtdurchlässigkeit D in % für					
Filter	Farbe	0,2	0,3	0,5	0,6	0,7	mg Blei/l.
S75	rot	98	98	99	99	99	
S72	rot	98	95	97	99	99	
S61	rot	56	45	49	40	37	
S57	gelb	67,5	56	62	53	49	
S53	grün	83	70	74	70	70	
S50	grün	83	70	74	70	70	
S47	blau	70	60	65	54	52,5	
S43	violett	70	60	65	54	52,5	

Farbkurve 1 zu Tabelle 1.



Aus der Taballe sowie aus den Farbkurven geht deutlich hervor, dass das Filter S61 das geeignetste ist, da es am wenigsten Licht durchlässt, also das grösste Absorptionsvermögen besitzt.

Als nächstes folgten nun Untersuchungen über die Beständigkeit der Grünfärbung gegenüber Temperaturen und Einfluss des Tageslichtes. Es zeigte sich, dass nach 6–8stündigem Stehen im Tageslicht bei einer Temperatur von 20° keinerlei Veränderungen der Farbe eintrat.

2.) Herstellung der Reagenzlösung.

Zur Herstellung der grünen Tetrachlorkohlenstoff-Dithizonlösung werden 20 mg Dithizon in 100 ccm Tetrachlorkohlenstoff gelöst. Da diese Lösung meist durch Oxydationsprodukte gelb gefärbt erscheint, muss man eine besondere Reinigung vornehmen. Zu diesem Zweck schüttelt man dieselbe mit verdünnter wässriger Ammoniakflüssigkeit (1 ccm konz. Ammoniak auf 200 ccm destilliertem Wasser) aus, wobei das Dithizon in die Ammoniakflüssigkeit geht und die gelbgefärbten Oxydationsprodukte in dem Tetrachlorkohlenstoff bleiben. Man lässt nun den Tetrachlorkohlenstoff ab und setzt erneut 100 ccm reinen Tetrachlorkohlenstoff zu. Vor der Zugabe überzeugt man sich durch Zusatz einer kleineren Menge Tetrachlorkohlenstoff, ob derselbe beim Durchschütteln nicht mehr gefärbt wird. Nun säuert man die ammoniakalische Dithizonlösung im Scheidetrichter mit verdünnter Salzsäure an und schüttelt durch, wobei das reine Dithizon wieder in den Tetrachlorkohlenstoff übergeht. Durch mehrmaliges Ausschütteln mit doppeltdestilliertem Wasser entfernt man die überschüssige Salzsäure und filtriert dann. Die so gereinigte Lösung kann man nun entsprechend mit Tetrachlorkohlenstoff verdünnen. Da die Lösung bei längerem Stehen sehr leicht oxydiert, empfiehlt es sich, sie in grösserer Menge herzustellen. Man nimmt sich dann jedesmal die zum Gebrauch nötige Menge davon und reinigt sie wie oben angegeben.

3.) Aufstellung einer Bleikurve.

Nach diesen Vorarbeiten konnte man daran gehen eine endgültige Bleikurve aufzustellen. Untersucht wurden Bleilösungen in Konzentrationen von 0,1–0,7 mg. Blei/l. Zunächst wurde eine Bleilösung,

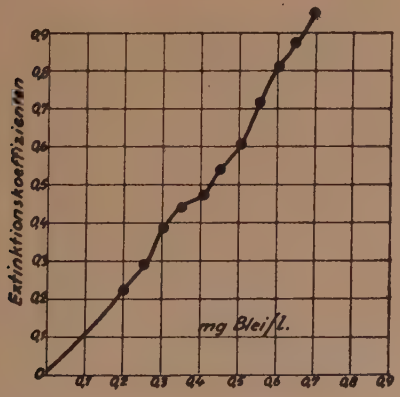
die einem Bleigehalt von 0,2 mg Blei/l entsprach, angewandt und nach der schon erwähnten Methode untersucht. Die Ablesung im Stufenphotometer ergab bei einer Küvette von 1 cm eine Lichtdurchlässigkeit D = 60 %. Nun wurde der Extinktionskoeffizient k bestimmt. Man versteht darunter den negativen dekadischen Logarithmus der durchgelassenen Lichtintensität D, dividiert durch die Schichtdicke in Zentimeter. Der Extinktionskoeffizient k = 2,00000 – 1,77815 = 0,22185. Wäre die Schichtdicke der Küvette 2 cm, so müsste man den gefundenen Wert durch 2 dividieren, da alle Werte für k auf die Schichtdicke von 1 cm bezogen werden. Genau so wurden die Extinktionskoeffizienten für die anderen Bleikonzentrationen ermittelt. Aus den bekannten Konzentrationen und dem gefundenen Werte für k lässt sich dann die Bleikurve aufstellen. Die Untersuchungen der einzelnen Bleikonzentrationen ergaben folgendes tabellarisches Bild:

Tabelle 2.

Angewandte Flüssigkeitsmenge 100 ccm.

mg Blei/l	Lichtdurchlässigkeit D %.	Schichtdicke V.	E. Koeffizient k
0,20	59,8	1 cm	0,223
0,25	51,3	1 cm	0,290
0,30	41,0	1 cm	0,387
0,35	60,1	0,5 cm	0,441
0,40	57,8	0,5 cm	0,477
0,45	53,1	0,5 cm	0,549
0,50	49,4	0,5 cm	0,613
0,55	43,3	0,5 cm	0,726
0,60	39,0	0,5 cm	0,814
0,65	36,6	0,5 cm	0,872
0,70	33,0	0,5 cm	0,963

Bleikurve 2 nach Tabelle 2.



Untersucht man die Werte für k auf die Gültigkeit des Lambert-Beer'schen Gesetzes, wonach sie in ein grafisches System eingetragen, eine gerade Linie bilden müssten, so ergibt sich, wie aus der Kurve ersichtlich ist, dass sie nicht genau einer Geraden entspricht. Berücksichtigt man jedoch die Fehler, die während des Arbeitens entstehen können und die Ablesefehler am Stufenphotometer, so kann man allgemein die Gültigkeit des Gesetzes als erfüllt betrachten.

4.) Versuche zur Bestimmung des Bleies neben Kupfer, Eisen, Mangan, Zink und vierwertigem Zinn.

Nach Festlegung der Bleikurve in grossen Zügen wurde versucht, das Blei auch in Gegenwart von anderen Metallen zu bestimmen.

Einfluss des Kupfers auf die Bestimmung des Bleies.

100 ccm einer reinen Bleilösung von 0,5 mg/l. wurden Kupferlösungen in den Konzentrationen von 0,5, 1,0 und 5,0 mg/l. zugefügt und die Bestimmung des Bleies vorgenommen. Um ein gleichmässiges Arbeiten zu gewährleisten, wurden die Ausschüttelungen zeitlich festgelegt, und zwar wurde nach jedem Zusatz der Reagenzlösung genau eine Minute lang geschüttelt. Die gesamten Blei-Tetrachlorkohlenstoffauszüge wurden je zweimal mit 10 ccm 0,5%iger Ammoniaklösung etwa 10–15 Sekunden ausgeschüttelt, um so das überschüssige Dithizon zu entfernen. Darauf wurden die in einem Stöpselzylinder gesammelten roten Blei-Tetrachlorkohlenstoffauszüge auf 30 ccm aufgefüllt und mit 5 ccm 12,5% Salzsäure solange geschüttelt, bis die Grünfärbung auftrat. Diese grüngefärbte Lösung wurde zur Messung gebracht, als Vergleichslösung diente reiner Tetrachlorkohlenstoff. Die Ablesung ergab denselben Wert wie eine reine Bleilösung. Auch andere Bleikonzentrationen ergaben dieselben Werte wie reine Bleilösung trotz Anwesenheit von Kupfer. Die Werte sind aus folgender Tabelle ersichtlich:

Tabelle 3.

Angewandte Flüssigkeitsmenge 100 ccm.

Zuges. Bleimenge mg Blei/l.	D %	Schichtdicke V.	Gef. Bleimenge mg Blei/l.	Verhältnis Pb:Cu.
0,20	60,0	1 cm	0,20	1:1
0,20	59,0	1 cm	0,21	1:2
0,20	60,0	1 cm	0,20	1:5
0,30	41,2	1 cm	0,29	1:1
0,30	40,0	1 cm	0,31	1:2
0,30	40,6	1 cm	0,30	1:10
0,40	57,5	0,5 cm	0,40	1:1
0,40	57,0	0,5 cm	0,40	1:10
0,50	50,0	0,5 cm	0,50	1:1
0,50	49,0	0,5 cm	0,52	1:10
0,60	40,2	0,5 cm	0,58	1:1
0,60	39,5	0,5 cm	0,60	1:10
0,70	33,0	0,5 cm	0,70	1:1
0,70	33,2	0,5 cm	0,70	1:10

Die Tabelle zeigt, dass die zugesetzten Mengen Blei fast genau wiedergefunden wurden, dass also die Anwesenheit von Kupfer selbst in grösseren Mengen die Bleibestimmung nicht stört.

Einfluss des Eisens auf die Bestimmung des Bleies.

Die Versuche wurden genau so ausgeführt wie bei Kupfer, doch traten hier plötzlich starke Abweichungen der Farbwerte auf. Die Ablesewerte wurden bedeutend niedriger, das heisst die Messflüssigkeiten waren stärker gefärbt. Bei näherer Untersuchung dieser Erscheinung stellte es sich heraus, dass die Farbe der Messflüssigkeit nicht mehr rein grün war, sondern einen gelb-braunen Einschlag hatte. Diese Braunfärbung konnte nur darauf zurückzuführen sein, dass sie durch Eisen in Gegenwart von Kaliumcyanid hervorgerufen wurde. Das Auftreten der Färbung ist schon öfters beobachtet und als irreversible Oxydation betrachtet worden. Wie war nun diese Wirkung des Eisens zu verhindern. Es wurde zunächst versucht durch Herabsetzung der Kaliumzyanidmenge zum Ziel zu gelangen, es wurde gerade soviel Kaliumcyanid zugegeben um das Eisen in Lösung zu halten (die Kaliumcyanidmenge wurde stöchiometrich ermittelt). Die Braunfärbung konnte dadurch wohl ausgeschaltet werden, doch musste bei jedem neuen Versuch in dem sich das Verhältnis Blei : Eisen änderte, eine neue Berechnung der nötigen Kaliumcyanidmenge aufgestellt werden. Sind die Verhältnisse wie in vorliegendem Falle bekannt, so kann man auf diese Weise die Färbung ausschalten, ist dagegen der Gehalt an Blei und Eisen nicht bekannt, was ja bei den Trinkwasseruntersuchungen immer der Fall ist, so ist dieser Weg nicht gangbar. Nun wurde versucht durch Zugabe von Oxalsäure und Zitronensäure Eisen in Lösung zu halten um so die Braunfärbung zu verhindern, doch ohne Erfolg. Auch das Kochen der Untersuchungsflüssigkeit mit reduzierenden Mitteln wie zum Beispiel Hydroxylaminhydrochlorid brachte nicht den gewünschten Erfolg. An ein Beiseitelassen des Kaliumcyanids war auch nicht zu denken, da letzteres unbedingt erforderlich ist um Metalle wie Kupfer und Zink in Lösung zu halten. Eine Arbeit der Franzosen M. H. Cheftel und Mlle Pigeaud (10), die kleine Mengen Blei in biologischem Material bestimmt haben, versprach einen gangbaren Weg. Die Verfasser, die die braun-gelbe Färbung bei Gegenwart von Eisen ebenfalls beobachteten und über die Ursache eingehendere Versuche anstellten, kamen zu dem Ergebnis, dass das Eintreten der Braunfärbung auf das Verhältnis Eisen : Blei und auf die Menge des zugefügten Kaliumcyanids zurückzuführen sei. Ferner stellten sie fest, dass die Kaliumcyanidmenge, die die Oxydation hervorruft, abhängig von diesem Verhältnis Eisen : Blei ist. Auf diesem Ergebnis fussend, nahmen sie Zuflucht zu einer vorläufig ausgeführten Extraktion. Sie bestimmen durch Zugabe von Kaliumcyanid in kleinen Mengen (0,2–0,5 ccm einer 5 % Kaliumcyanidlösung) zu einer bekannten Eisen-Bleilösung die Menge Kaliumcyanid, die nötig ist, um einerseits das störende Metall in Lösung zu halten und die andererseits keinerlei Oxydationswirkung hervorruft. In einer endgültigen Extraktion setzen sie dann einfach die nach der vorläufigen Extraktion gefundene nötige Menge Kaliumcyanid auf einmal zu und schütteln mit Dithizonlösung aus. Sie arbeiten bei einer P_H Stufe von 7,5 bei Zusatz von Zitronensäure. Nach Anwendung dieser Methode konnte der störende Einfluss des Eisens beseitigt werden. Da bei dieser Arbeits-

weise, wie spätere Versuche zeigten, auch die anderen in Trinkwasser etwa vorhandenen Metalle wie Zink, Mangan und vierwertiges Zinn nicht störten, so wurde sie zur stufenphotometrischen Bestimmung des Bleies zugrunde gelegt. (Vergleiche Seite 11.)

5.) Arbeitsgang zur Bestimmung des Bleies in Gegenwart von Kupfer, Eisen, Mangan, Zink und vierwertigem Zinn.

100 ccm einer bleihaltigen Flüssigkeit werden mit 0,5 g Zitronensäure versetzt und mit einer 0,5 % wässrigen Ammoniaklösung bis zum Umschlag auf Lakmuspapier titriert, um so auf ein PH von 7,5 zu kommen. Darauf gibt man die Flüssigkeit in einen Scheidetrichter, fügt zunächst 0,5 ccm 5 % Kaliumcyanidlösung und 5 ccm Dithizonlösung (6 mg Dithizon in 100 ccm Tetrachlorkohlenstoff) hinzu und schüttelt aus. Es tritt eine charakteristische Rotfärbung der Blei-Dithizonkomplexverbindung auf. Zeigt sich nicht die reine Rotfärbung, was man leicht durch Vergleiche mit einer reinen Bleilösung, die man auf dieselbe Weise behandelt hat, feststellen kann, oder tritt ein gelb-brauner Farbton auf, der durch Eisen verursacht wird, so fügt man abermals Kaliumcyanidlösung in Anteilen von 0,1–0,2 ccm zu, schüttelt und verfährt damit solange, bis der richtige Farbton auftritt. Bei einiger Erfahrung bietet das Erkennen des richtigen Tones keinerlei Schwierigkeit. Das Zugeben der Kaliumcyanidlösung muss sehr vorsichtig geschehen, da bei einem Ueberschuss derselben Farbschwächungen eintreten können. Die rote Blei-Dithizonlösung trennt man nun ab, setzt abermals 5 ccm Reagenzlösung hinzu und schüttelt erneut aus. Mit dem Ausschütteln und Abtrennen verfährt man solange bis keine Rotfärbung mehr auftritt und das neu zugegebene Reagenz rein grün gefärbt erscheint. Die rotgefärbten Blei-Tetrachlorkohlenstofflösungen, die man im Schüttelzylinder gesammelt hat, werden nun zweimal mit je 10 ccm 0,5 % wässriger Ammoniaklösung ausgeschüttelt um das überschüssige freie Dithizon zu entfernen. Die ammoniakalische Lösung (Waschflüssigkeit) darf nicht mehr gelb gefärbt sein. Die so gereinigte Blei- Tetrachlorkohlenstofflösung füllt man mit reinem Tetrachlorkohlenstoff auf 30 ccm auf, säuert mit 5 ccm 12,5 % Salzsäure an, schüttelt gut durch und bringt nunmehr die grüngefärbte Lösung im Stufenphotometer bei Filter S61 zur Mesung. Es ist darauf zu achten, dass die zugegebenen Reagenzlösungen bleifrei sind (Prüfung mit Dithizon I).

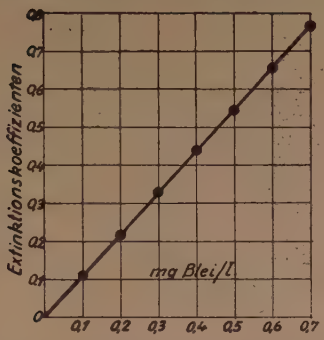
Belegversuche mit reinen Bleilösungen nach der neuen Methode.

Tabelle 4.

Angewandte Flüssigkeitsmenge 100 ccm.

mg Blei/l.	Lichtdurchlässigkeit D %.	Schichtdicke V.	E.Koeffizient k
0,10	60,0	2 cm	0,111
0,20	60,0	1 cm	0,222
0,30	46,5	1 cm	0,337
0,40	35,5	1 cm	0,450
0,50	53,0	0,5 cm	0,551
0,60	47,0	0,5 cm	0,656
0,70	41,0	0,5 cm	0,774

Bleikurve 3 nach Tabelle 4.



Wie die Kurve zeigt, liegen die Werte der Extinktionskoeffizienten auf einer Graden, die Kurve entspricht also voll und ganz dem Lambert-Beer'schen Gesetz.

Untersuchungen zur Bestimmung von Blei neben 2,5 mg Kupfer und 10 mg Eisen/l.

Tabelle 5.

Angewandte Flüssigkeitsmenge 100 ccm.

Zuges. Bleimenge mg Blei/l.	D %	Schichtdicke V.	Gef. Bleimenge mg Blei/l.
0,30	45,5	1 cm	0,28
0,40	34,7	1 cm	0,42
0,50	54,0	0,5 cm	0,51

Untersuchungen zur Bestimmung von Blei neben 2,5 mg Kupfer, 5 mg Eisen, 10 mg Zink, 1mg Mangan und 2 mg vierwertigem Zinn.

Tabelle 6.

Angewandte Flüssigkeitsmenge 100 ccm.

Zuges. Bleimenge mg Blei/l.	D %	Schichtdicke V	Gef. Bleimenge mg Blei/l.
0,30	46,0	1 cm	0,29
0,40	35,0	1 cm	0,40
0,50	54,0	0,5 cm	0,51

Wie aus den beiden Tabellen ersichtlich ist, stören nach Anwendung der angegebenen Methode weder grössere Mengen Eisen, noch andere Metalle wie Kupfer, Zink, Mangan und vierwertiges Zinn die

Bestimmung des Bleies. Zweiwertiges Zinn könnte Störungen hervorrufen, doch können diese im Trinkwasser dadurch behoben werden, dass man vor Ausführung der Bestimmung das Zinn in die vierwertige Form überführt. (Kochen mit Eisenchloridlösung). Im übrigen wird eine Beeinflussung im Trinkwasser durch zweiwertiges Zinn kaum in Frage kommen. Nach diesen Befunden ist die auf Seite 10 beschriebene Arbeitsmethode als endgültig anzusehen.

Sind grössere Mengen Blei wie 0,7 mg/l in der Untersuchungsflüssigkeit vorhanden, was man leicht an dem Verbrauch an Reagenzlösung feststellen kann (mehr wie 30 ccm dürfen nicht verbraucht werden, da das Endvolumen auf 30 ccm festgelegt ist), so verdünnt man zweckmässig.

Die folgende Tabelle gibt Aufschluss darüber, welche Mengen Dithizonlösung annähernd bei den einzelnen Bleikonzentrationen nötig sind.

Tabelle 7.

Vorhandene Bleimenge mg Blei/l.	Ungefährer Verbrauch an Dithizonlösung in ccm.
0,20	12 – 14
0,30	16 – 17
0,40	19 – 20
0,50	21 – 23
0,60	23 – 26
0,70	27 – 30

Zur Erleichterung der Auswertung der Methode sei an einem Beispiel die Berechnung des Bleigehaltes angegeben. 100 ccm Untersuchungsflüssigkeit werden ausgeschüttelt und die Endfärbung im Stufenphotometer gemessen. Als Beispiel nehmen wir eine Ablesung von 60% bei einer Küvette von 2 cm an. Nun berechnen wir k. ($k = {}^1/_2 (1 - \log 60)$ auf Schichtdicke 1 ccm bezogen). k ergibt einen Wert von 0,1109. Aus der Tabelle 4, die als endgültige allen weiteren Berechnungen zugrunde gelegt wird, sowie aus der Eichkurve nach dieser Tabelle ersieht man, dass dieser Wert einem Bleigehalt von 0,1 mg Blei/l entspricht. Beträgt nun die Ablesung bei 2 cm Schichtdicke nur 50%, k = 0,15051, also ein Wert der nicht in der Tabelle vorkommt, so berechnet man den Bleigehalt nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz. Dieses besagt, dass die Extinktionskoeffizienten direkt proportional den Konzentrationen sind, also $k_1 : k_2 = c_1 : c_2$. Für k nimmt man den Wert aus der Tabelle, der unserem Werte k am nächsten liegt, also k = 0,1109. Es ergibt sich dann folgende Rechnung:

$$k_1 = 0{,}1109.\ k_2 = 0{,}15051.\ c_1 = 0{,}10.\ c_2 = x.$$

$$\frac{0{,}11090}{0{,}15051} = \frac{0{,}1.}{x} \qquad x = \frac{0{,}15051 \cdot 0{,}1}{0{,}1109} \qquad x = 0{,}135 \text{ mg Blei/l.}$$

Bei der Bestimmung des Bleies nach unserer Arbeitsmethode wurde eine Grünfärbung herangezogen, während die eigentliche Blei-Dithizon-Verbindung rot gefärbt ist. Es tauchte daher die Frage auf, ob die grüngefärbte Endlösung ebenfalls eine Blei-Dithizonverbindung sei. Wie bekannt schlägt nämlich die beim Ausschütteln von Bleilösung mit Dithizon entstehende rotgefärbte Blei-Dithizonkomplexverbindung beim Ansäuern mit Salzsäure und nachfolgendem Schütteln, in grün um. Es bestanden zwei Möglichkeiten, entweder stellte die Grünfärbung eine andere Form der Blei-Dithizonverbindung dar, oder diese Grünfärbung ist lediglich eine Färbung des durch Salzsäure in Freiheit gesetzten Dithizons.

Die zum Ausschütteln der zunächst rotgefärbten Blei-Dithizonverbindung angewandten 5 ccm 12,5% Salzsäure wurden nach Neutralisation in der gleichen Weise nach unserem Arbeitsgang behandelt. Es stellte sich dabei heraus, dass diese Salzsäure die gleiche Menge Blei enthielt wie die ursprüngliche Bleilösung nämlich 0,5 mg Blei/l. Ein Zeichen dafür, dass beim Ausschütteln der roten Verbindung mit Salzsäure das gesamte Blei in die Salzsäure übergeht, während das unveränderte Dithizon im Tetrachlorkohlenstoff zurück bleibt. Die von uns der Messung unterworfene Grünfärbung stellt daher keine Blei-Dithizonverbindung dar, sondern rührt von dem reinen Dithizon her, das vor der Salzsäurebehandlung an das Blei gebunden war. Es ergibt sich hieraus, dass die obige Annahme richtig ist, und dass das Blei quantitativ in Salzsäure übergeht. Nach dieser Erkenntnis ist die Möglichkeit einer Doppelbestimmung gegeben, indem man einmal die zu untersuchende Flüssigkeit ausschüttelt und das anderemal die Salzsäure.

6.) Anwendung der Methode auf die Bleibestimmung in Leitungswasser, Mineralwasser und Limonade.

Die angegebene Methode wurde hier praktisch angewandt. Den angewandten Flüssigkeiten wurde eine bestimmte Menge Blei zugesetzt und dann versucht diese Menge quantitativ wiederzufinden. Als erstes wurde reines Mineralwasser (Friedrichsdorfer Hassiasprudel) auf Blei untersucht, indem man von 100 ccm Untersuchungsflüssigkeit ausging und diese nach der Arbeitsweise auf Seite 10 behandelte. Die gefärbte Endlösung des nicht mit Blei versetzten Wassers wurde dann als Vergleich gegen die Endlösung, die man aus dem mit Blei versetzten Mineralwasser erhielt, im Stufenphotometer gemessen. Auf diese Weise wurde somit ein schon vorhandener Bleigehalt des Mineralwassers ausgeschaltet.

Beleganalyse 1.

Angewandte Menge Mineralwasser 100 ccm.

Zugegebene Bleimenge mg Blei/l.	Gefundene Bleimenge mg Blei/l.
0,50	0,48
0,20	0,21
0,10	0,09

Beleganalyse 2.

Angewandte Menge Leitungswasser 100 ccm.

Zugegebene Bleimenge mg Blei/l.	Gefundene Bleimenge mg Blei/l.
0,20	0,19
0,40	0,42
0,70	0,68

Die zugesetzten Bleimengen wurden sowohl bei Leitungswasser als auch Mineralwasser genau wiedergefunden. Dass auch Kupfer und Eisen nicht stören, zeigt die folgende Tabelle.

Beleganalyse 3.

Angewandte Menge Mineralwasser und Leitungswasser 100 ccm, mit Zusatz von 3 mg Kupfer und 5 mg Eisen/1.

Zugegebene Bleimenge mg Blei/l.	Gefundene Bleimenge mg Blei/l.
0,20	0,19
0,40	0,42
0,50	0,51
0,70	0,68

Bei gefärbten Limonaden gibt sich der grosse Vorteil des Verfahrens gegenüber den älteren Methoden zu erkennen. Während man früher erst eine Zerstörung der Limonade vornehmen musste, ist dies hier nicht mehr erforderlich. Man kann die gefärbte Limonade direkt mit der Dithizonlösung ausschütteln, sofern der wasserlösliche Farbstoff im organischen Lösungsmittel (CCl_4) nicht löslich ist, was bei den gefärbten Limonaden, soweit sie mir vorlagen, immer der Fall war.

Beleganalyse 4.

Angewandte Flüssigkeitsmenge 100 ccm.

	Zugegebene Bleimenge mg Blei/l.	Gefundene Bleimenge mg Blei/l.
in roter Limonade	0,20	0,19
in gelber Limonade	0,50	0,50
in grüner Limonade	0,70	0,68

Auch bei der Bestimmung des Bleies in Limonaden stören die Metalle wie Eisen und Kupfer nicht, was aus folgender Beleganalyse hervorgeht.

Beleganalyse 5.

Angewandte Flüssigkeitsmenge 100 ccm, mit Zusatz von 5 mg Kupfer 5 mg Eisen/l.

	Zugegebene Bleimenge mg Blei/l.	Gefundene Bleimenge mg Blei/l.
in roter Limonade	0,20	0,19
in gelber Limonade	0,50	0,48
in grüner Limonade	0,70	0,67

Die Tabellen zeigen, dass die Bestimmung des Bleies recht exakt ist.

7.) Anwendung der Methode zur Bestimmung von Blei in Urin.

Die Einfachheit und leichte Durchführbarkeit der Bleibestimmung in Wässern und Limonaden brachte mich auf den Gedanken, die Bestimmung von Blei auf biologisches Material auszudehnen, insbesondere zu versuchen das Blei direkt durch Ausschütteln mit Dithizon ohne vorherige Zerstörung zu ermitteln.

H. Bohnenkamp und W. Linneweh (11) bestimmten das Blei mit Hilfe von Dithizon auf titrimetrischem Wege, indem sie nach Eindampfen des Urins und Auflösen des Rückstandes in heissem Wasser mit Dithizon ausschütteln. P. Schmidt und Mitarbeiter (12), Seelkopf und Taeger (13) und I. Kraus (14) führen die Bleibestimmung auf elektrolytischem Wege durch. D. Behrens und H. Taeger (15)bedienen sich der stufenphotometrischen Messung der durch Blei rotgefärbten Dithizonlösung. Die angegebenen Methoden sind aber zum Teil ungenau, oder wie das Verfahren von Behrens und Taeger, welches grossen Anspruch auf Genauigkeit erhebt, sehr umständlich. Die Bestimmung von Blei in Urin nach meiner Methode schien eine dankbare Aufgabe zu sein.

Zunächst wurde ein mit einer bekannten Menge Blei (zugesetzt wurde Bleichlorid) versetzter Urin genau so behandelt wie bei den Untersuchungen von Blei in Wässern angegeben ist. Es zeigte sich aber einmal, dass nicht die reine Bleifarbe auftrat, sondern eine Mischfarbe und zum anderen Mal, dass sich die Dithizonlösung im Scheidetrichter nicht klar absetzte, sondern emulgiert blieb. Es blieb somit kein anderer Weg als den Urin zu zerstören und dann im Auszug das Blei nachzuweisen. Anstelle der Zerstörung auf die übliche Weise mit Schwefelsäure und Salpetersäure wurde eine Zerstörung mit Perchlorsäure, die die Franzosen M. H. Cheftel und Mlle Pigeaud (10) angegeben haben, durchgeführt.

100 ccm Urin werden in einem Kolben mit 10 ccm konzentrierter Schwefelsäure versetzt und nach Aufsetzen einer Birne über einer Flamme ziemlich stark erhitzt. In einem Zeitraum von 10 Minuten setzt man 20 ccm Salpetersäure (spez. Gew. 1,4) in kleinen Portionen zu und erhitzt solange weiter, bis keine braunen Stickstoffdioxyddämpfe mehr entstehen. Darauf verkleinert man die Flamme und fügt eine Mischung von ein Teil Salpetersäure und zwei Teilen Perchlorsäure (1 – 2 ccm) hinzu. Es entsteht eine heftige Reaktion unter Entwicklung von Stickstoffdioxyddämpfen. Nach Verschwinden derselben setzt man abermals 1 – 2 ccm der Mischung zu und vergrössert allmählich die Flamme. Nach Zusatz von weiteren 15 ccm der Mischung, die man auf einmal zugibt, erhitzt man mit voller Flamme bis zum Schluss. Nach der letzten Zugabe ist die Lösung gelb-orange gefärbt, nach einigem Erhitzen wird sie zitronengelb, darauf ist die Zerstörung beendet. Beim Abkühlen muss die Lösung farblos werden oder darf nur leicht gelb gefärbt sein. Die Zerstörung dauert etwa 20 Minuten. Der abgekühlten Lösung setzt man 30 ccm destilliertes Wasser zu und erhitzt vorsichtig 15 – 20 Minuten, um die Chlordämpfe zu vertreiben. (Vorsicht, da die Flüssigkeit leicht spritzt!). Man lässt die Flüssigkeit erkalten und fügt nochmals 30 ccm destilliertes Wasser hinzu, indem man die Birne damit reinigt. Nach weiterem Zusatz von 20 ccm Natriumacetatlösung (20%) und 0,5 – 1 g Zitronensäure neutralisiert man die Lösung mit verdünnter Ammoniaklösung und erkennt den Um-

schlag mit Lakmuspapier. Die neutrale Lösung wird auf 200 ccm aufgefüllt und kann nun nach der bekannten Methode auf Seite 10 mit Dithizonlösung ausgeschüttelt werden. Zu bemerken ist noch, dass gleichzeitig mit der Zerstörung ein Blindversuch angesetzt werden muss, um die in den Reagenzlösungen etwa vorhandenen Bleimengen nachher durch Vergleich im Stufenphotometer auszuschalten.

Beleganalyse 6.

Angewandte Menge Urin 100 ccm.

Zugegebene Bleimenge mg Blei/l.	Gefundene Bleimenge mg Blei/l.
0,30	0,32
0,40	0,38
0,50	0,50
0,60	0,61

Wie die Beleganalysen zeigen, sind die gefundenen Werte für Blei recht genau.

Die vorstehende Arbeitsmethode wird sich auch anwenden lassen, um kleine Mengen von Blei in Lebensmitteln und Bedarfsgegenständen der verschiedensten Art zu bestimmen.

Zusammenfassung.

Zunächst wurde eine Farbkurve für Blei aufgestellt und das beste Filter gesucht. Filter S61 erwies sich als das geeigneteste. Dann wurde eine vorläufige Bleikurve festgelegt. Darauf wurden Versuche angestellt, Blei neben anderen Metallen zu bestimmen. Schwierigkeiten bereitete das Eisen, das aber nach Zuhilfenahme der Methode von M. H. Cheftel und Mlle Pigeaud (10) ausgeschaltet werden konnte. Nach Ausarbeitung eines endgültigen Arbeitsganges wurde dann eine Eichtabelle (Tabelle 4) sowie eine Eichkurve (Bleikurve 3) für Blei aufgestellt. Es folgten dann Bestimmungen von Blei allein und neben anderen Metallen in Leitungswasser, Mineralwasser, Limonaden und in Urin.

C. Die Bestimmung des Kupfers.

Kupfer reagiert sowohl in neutraler oder schwach ammoniakalischer Lösung wie auch in saurer Lösung mit Dithizon. Im ersten Falle bildet es eine gelbbraune Komplexverbindung, im andern Falle schlägt die Farbe in violett um. Es hat sich gezeigt, dass die letztere Reaktion, also im sauren Gebiet noch viel empfindlicher ist als die im neutralen oder alkalischem Gebiet. Auch H. Fischer (4) hat dies beobachtet. Die violette Färbung im sauren Gebiet ist für Kupfer charakteristisch, da sie von keinem anderen Metall unter diesen Bedingungen gegeben wird. Wohl reagieren auch die edleren Metalle Gold, Quecksilber, Silber, Platin und Palladium in saurer Lösung doch mit anderer Farbe. Auch ist dies unwesentlich für diese Arbeit, da diese Metalle in Wässern praktisch nicht vorkommen, also unberücksichtigt gelassen werden können. Interessant ist es etwas über die Zusammensetzung der beiden verschieden gefärbten Kupferverbindungen zu erfahren. Die gelbbraune Kupfer-Dithizonverbindung enthält auf ein Atom Kupfer ein Mol Dithizon, die violette Verbindung hingegen zwei Mole Dithizon auf ein Kupferatom. Die erstere Verbindung tritt stets bei Anwesenheit eines Kupferüberschusses auf, während im anderen Falle, sobald also das Verhältnis Kupfer:Dithizon zugunsten des letzteren überschritten wird, die violette Verbindung auftritt. Im sauren Gebiet tritt selbst bei starkem Kupferüberschuss immer die violettrote Färbung der kupferärmeren Verbindung auf.

Die Tatsache, dass Dithizon in mineralsaurem Medium nur mit den Metallen Kupfer, Quecksilber, Silber, Gold und Palladium Komplexverbindungen eingeht, liess den Gedanken aufkommen, ein Verfahren auszuarbeiten, welches es ermöglicht Kupfer in Wässern zu bestimmen.

H. Fischer und Gr. Leopoldi bestimmten kleinere Mengen quantitative Bestimmung des Kupfers auf kolorimetrischem Wege mit Hilfe des Hellige-Keil Kolorimeters ausgearbeitet. Auch hier hat eine exakte Kupferbestimmung mit Hilfe des Stufenphotometers sicherlich eine grössere Genauigkeit zur Folge als der individuelle Vergleich im Keil-Kolorimeter. Es soll nun die weitere Aufgabe der Arbeit sein eine brauchbare stufenphotometrische Methode zur Bestimmung des Kupfers in Wässern und Lebensmitteln auszuarbeiten.

H. Fischer und Dr. Leopoldi bestimmten kleinere Mengen Kupfer auf folgendem Wege: die Spuren Kupfer enthaltende annähernd neutrale Lösung wird auf je 10 ccm mit 2 ccm 10% Schwefelsäure versetzt. Darauf fügt man etwa 5 ccm der grünen Dithizonlösung (6 mg Dithizon auf 100 ccm CCl_4) zu, schüttelt recht sorgfältig durch, trennt die nunmehr violett gefärbte Kupfer-Dithizonlösung von der wässrigen Lösung im Scheidetrichter ab und sammelt sie in einem Stöpselzylinder. Das Verfahren wird mit kleinen Portionen Reagenzlösung solange wiederholt, bis die Dithizon-Tetrachlorkohlenstofflösung kein reines Violett mehr, sondern bereits eine Mischfarbe zeigt. Ist dieser Zustand erreicht worden, so wird zur Kontrolle der völligen Abtrennung des Kupfers noch eine weitere Extraktion mit etwa 1 ccm stärker verdünnter Dithizonlösung vorgenommen, bei der die Lösung unverändert grün bleiben muss. Die vereinigten kupferhaltigen Tetrachlorkohlenstoff-Extrakte werden zur Entfernung des überschüssigen Reagenzes, mit etwa 5 ccm einer sehr schwachen, schwermetallfreien

(Prüfung mit Dithizon) ammoniakalischen Lösung (1 : 200) durchgeschüttelt und von der Waschflüssigkeit im Scheidetrichter getrennt. Das Auswaschen wird eins bis zweimal wiederholt, wobei die beim erstenmal gelb gefärbte ammoniakalische Waschflüssigkeit farblos bleiben muss. Die so gereinigten violetten Kupfer-Tetrachlorkohlenstoffauszüge werden mit Tetrachlorkohlenstoff auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt, mit verdünnter Schwefelsäure durchgeschüttelt und nun im Keil-Kolorimeter gemessen.

1.) Aufstellung der Kupferkurve und des Arbeitsganges.

Es wurde zunächst eine Farbkurve aufgestellt, um das geeignetste Filter zu finden. Weiterhin wurde eine Kupferkurve ermittelt mit deren Hilfe die Gültigkeit des Lambert-Beer'schen Gesetzes geprüft werden sollte. Die Methode nach H. Fischer und Dr. Leopoldi wurde genau eingehalten und reine Kupferlösungen ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$ pro analysi, gelöst in doppelt destilliertem Wasser) in den Konzentrationen von 0,1 bis 0,6 mg Kupfer/l untersucht. Dabei zeigt sich, dass infolge des Zusatzes der verhältnismässig grossen Menge Schwefelsäure die Reaktion des Dithizons mit Kupfer nur sehr langsam vor sich ging. Der Gesamtzusatz wurde deshalb herabgesetzt und es hat sich im Verlauf der Arbeit erwiesen, dass ein Zusatz von 2 ccm einer 10%igen Schwefelsäure genügt um die spezifische Reaktion für Kupfer durchzuführen.

Arbeitsgang.

100 ccm Untersuchungsflüssigkeit werden mit 2 ccm 10%iger Schwefelsäure angesäuert und zunächst mit 5 ccm Dithizonlösung (6 mg auf 100 ccm CCl_4) ausgeschüttelt. Es tritt eine violettrote Färbung der Reagenzlösung auf. Die gefärbte Lösung lässt man ab, sammelt sie in einem Stöpselzylinder und schüttelt die Untersuchungsflüssigkeit erneut mit 5 ccm Reagenzlösung aus. Die Ausschüttelung mit der Dithizonlösung erfolgt solange bis diese nicht mehr gefärbt wird und rein grün bleibt. Die gesammelten rotviolett gefärbten Auszüge reinigt man von dem überschüssigen Dithizon indem man sie zweimal mit je 10 ccm wässriger ammoniakalischer Lösung (1 : 200) ausschüttelt. Die Waschflüssigkeit darf nach dem Ausschütteln nicht mehr oder kaum noch gelb gefärbt erscheinen. Nun füllt man die so behandelten Kupfer-Dithizonauszüge mit reinem Tetrachlorkohlenstoff auf 30 ccm auf, säuert mit 5 ccm verdünnter Schwefelsäure an, schüttelt gut durch und bringt die abgetrennte, gefärbte Lösung im Stufenphotometer zur Messung. Gemessen wird gegen reinen Tetrachlorkohlenstoff. Als geeignetstes Filter erwies sich Filter S53.

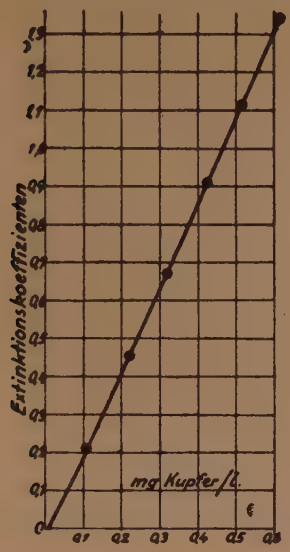
Die einzelnen Ablesungen ergaben folgendes Bild:

Tabelle 8.

Angewandte Flüssigkeitsmenge 100 ccm.

mg Kupfer/l.	Lichtdurchlässigk. D%	Schichtdicke V.	E.Koeffizient k
0,10	60,0	1 cm	0,222
0,20	34,0	1 cm	0,469
0,30	21,0	1 cm	0,678
0,40	59,0	0,25 cm	0,927
0,50	53,0	0,25 cm	1,136
0,60	46,0	0,25 cm	1,349

Eichkurve für Kupfer nach Tabelle 8.



Die Tabelle sowie die Eichkurve zeigen deutlich, dass das Lambert-Beer'sche Gesetz erfüllt ist.

Nach der angegebenen Methode lassen sich Kupfermengen bis zu 0,6 mg Kupfer/l bestimmen. Sind grössere Mengen vorhanden, so muss entsprechend verdünnt werden. Die folgende Tabelle gibt Aufschluss darüber, welche Mengen Dithizonlösungen annähernd bei den einzelnen Kupferkonzentrationen nötig sind.

Tabelle 9.

Vorhandene Kupfermengen mg Kupfer/l.	Ungefährer Verbrauch an Dithizonlösung in ccm
0,10	5 – 7
0,20	9 – 11
0,30	14 – 16
0,40	17 – 19
0,50	22 – 24
0,60	28 – 30

2.) Bestimmung von Kupfer neben Blei und anderen Metallen.

Zur Bestimmung von Kupfer und Blei neben anderen Metallen wurden der Kupferlösung Lösungen mit bekanntem Gehalt an Blei, Mangan, Eisen, Zink und vierwertigem Zinn zugesetzt und mit Dithizonlösung nach der auf Seite 18 angegebenen Arbeitsweise ausgeschüttelt.

Beleganalyse 7.

Angewandte Flüssigkeitsmenge 100 ccm.

Vorhand. Menge Kupfer mg Kupfer/l.	Zuges. Menge Metalle mg/l.					Gef. Menge Kupfer mg Kupfer/l.
	Blei	Mangan	Eisen	Zinn	Zink	
0,10	1,0	0,25	1,0	2,0	1,0	0,11
0,20	1,0	0,50	1,0	1,0	2,0	0,21
0,30	2,0	0,50	2,0	2,0	2,0	0,32
0,40	2,0	0,50	5,0	3,0	2,0	0,39
0,50	3,0	0,25	7,0	3,0	4,0	0,50
0,60	5,0	0,50	10,0	5,0	5,0	0,62

Wie aus den Analysen hervorgeht, ist die Bestimmung des Kupfers auch in Gegenwart von anderen Metallen sehr genau. Erfassbar sind nach dieser Methode 10 γ in 100 ccm Flüssigkeit.

3.) Anwendung der Methode auf die Kupferbestimmung in Leitungswasser, Mineralwasser und Limonaden.

Zur Bestimmung von Kupfer in Wässern wird auch hier von 100 ccm Untersuchungsflüssigkeit ausgegangen. Diese Menge wird zunächst mit verdünnter Ammoniakflüssigkeit (1 : 200) neutralisiert, mit 2 ccm 10%iger Schwefelsäure angesäuert, mit Dithizonlösung ausgeschüttelt und dann wie auf Seite 18 angegeben ist, weiter behandelt. Genau so wie bei der Bestimmung von Blei in Limonaden zeigte sich auch hier, dass die Farben der Limonaden nicht stören, sofern sie im Tetrachlorkohlenstoff unlölich sind.

Beleganalyse 8.

Angewandte Menge Mineralwasser 100 ccm.

Zugegebene Kupfermenge mg Kupfer/l.	Gefundene Kupfermenge mg Kupfer/l.
0,10	0,10
0,20	0,21
0,50	0,49

Beleganalyse 9.

Angewandte Flüssigkeitsmenge 100 ccm.

	Zugegebene Kupfermenge mg Kupfer/l.	Gefundene Kupfermenge mg Kupfer/l.
in roter Limonade	0,10	0,11
in gelber Limonade	0,20	0,21
in grüner Limonade	0,50	0,50

Die zugesetzten Kupfermengen wurden, wie die Tabellen zeigen, genau wiedergefunden. Dass auch andere Metalle selbst in grösseren Mengen nicht stören, zeigt die folgende Tabelle.

Beleganalyse 10.

Angewandte Flüssigkeitsmenge 100 ccm, mit Zusatz von 5 mg Blei und 5 mg Eisen/l.

	Zugegebene Kupfermenge mg Kupfer/l.	Gefundene Kupfermenge mg Kupfer/l.
in roter Limonade	0,10	0,11
in gelber Limonade	0,20	0,19
in grüner Limonade	0,50	0,51

4.) Die Bestimmung von Kupfer und Blei in einem Arbeitsgang.

Zur Bestimmung von Kupfer und Blei nebeneinander in einem Arbeitsgang werden 100 ccm Mineralwasser oder Limonade zunächst mit 2 ccm 10%iger Schwefelsäure angesäuert und mit Dithizonlösung, genau wie bei der Kupferbestimmung auf Seite 18, ausgeschüttelt. Ist sämtliches Kupfer extrahiert, was bei dem Ausschütteln an der unveränderten Farbe der neu zugefügten Dithizonlösung erkennbar ist, so filtriert man die wässrige Flüssigkeit, setzt 0,5 g Zitronensäure zu, neutralisiert mit verdünnter Ammoniaklösung (1 : 200) bis zum Umschlag auf Lakmuspapier und bestimmt dann das Blei wie auf Seite 10 angegeben ist.

Beleganalyse 11.

Angewandte Menge Mineralwasser 100 ccm.

Zugesetzte Menge mg/l.		Gefundene Menge mg/l.	
Blei	Kupfer	Blei	Kupfer
0,30	0,40	0,32	0,41
0,50	0,50	0,51	0,50

Beleganalyse 12.

Angewandte Flüssigkeitsmenge 100 ccm.

	Zugesetzte Menge mg/l.		Gefundene Menge mg/l.	
	Blei	Kupfer	Blei	Kupfer
in roter Limonade	0,30	0,40	0,31	0,42
in gelber Limonade	0,40	0,20	0,39	0,20
in grüner Limonade	0,50	0,50	0,52	0,50

Die Bestimmung von Kupfer und Blei in Wässern nebeneinander in einem Arbeitsgang ist, wie die Ergebnisse der obigen Beleganalysen zeigen, sehr gut durchführbar.

Die Berechnung des Kupfergehaltes erfolgt auf dieselbe Weise wie bei der Berechnung des Bleies auf Seite 12 angegeben ist. Zugrunde gelegt werden hierbei die Werte der Tabelle 8 und die Eichkurve für Kupfer nach der Tabelle 8.

5.) Anwendung der Methode zur Bestimmung des Kupfers in Lebensmitteln.

Die oben beschriebene Methode wurde nunmehr auf die Bestimmung von Kupfer in Wein angewandt. 100 ccm eines Weines wurden nach der schon beim Blei (Seite 15) angegebenen Methode mit Schwefelsäure und Perchlorsäure zerstört, mit verdünntem Ammoniak neutralisiert und dann, nach dem Ausäuern mit Schwefelsäure (2 ccm 10% H_2SO_4) mit Dithizonlösung ausgeschüttelt. Gleichzeitig muss ein Blindversuch angesetzt werden. Eine direkte Bestimmung des Kupfers in Wein war nicht möglich.
Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle festgelegt.

Beleganalyse 13.

Angewandte Menge des Weines 100 ccm.

Zugesetzte Kupfermenge mg Kupfer/l.	Gefundene Kupfermenge mg Kupfer/l.
0,30	0,30
0,40	0,42
0,50	0,51
0,60	0,63

Die Methode kann vermutlich auch zur Bestimmung des Kupfers in anderen Lebensmitteln sinngemäss übertragen werden.

Zusammenfassung.

Die Methode von H. Fischer und Gr. Leopoldi (4) wurde nachgeprüft und für gut befunden. Allerdings wurde der Schwefelsäurezusatz für 100 ccm Untersuchungsflüssigkeit auf 2 ccm herabgesetzt. Weiterhin wurde eine Eichtabelle (Tabelle 8) sowie eine Eichkurve aufgestellt. Der Einfluss anderer Metalle auf die Kupferbestimmung wurde einer Prüfung unterzogen, wobei die Brauchbarkeit des Verfahrens durch Beleganalysen erwiesen wurde. Die Methode wurde auf Untersuchungen von Kupfer in Mineralwasser, Leitungswasser, Limonaden und Lebensmittel ausgedehnt. Zum Schluss wurde eine Arbeitsmethode zur gleichzeitigen Bestimmung von Kupfer und Blei nebeneinander in einem Arbeitsgang beschrieben.

D. Die Bestimmung des Zinks.

Zink ist ein Metall, das arm an charakteristischen und spezifischen Reaktionen ist, sodass eine kolorimetrische, quantitative Bestimmung von kleinen Mengen des Metalles sehr erschwert wird. Wohl sind verschiedene Arbeiten über den Nachweis von kleinen Mengen Zink erschienen, die darauf beruhen, gefärbte Komplexverbindungen des Zinks, zum Beispiel mit Diäthylanilin (16) oder Diphenylamin und Ferricyanid (17) oder mit Resorcin (18) hervorzurufen. Alle diese Methoden sind nur qualitativ und nicht eindeutig, da die Reaktionen auch von anderen Elementen gegeben werden. G. Rienäcker und W. Schiff (19) führten eine qualitative Bestimmung des Zinks mit Hilfe von Dithizon durch, sie arbeiteten dabei in wässrig alkalischer Lösung und behaupteten, dass die entstehende Rotfärbung unter diesen Bedingungen von keinem anderen Metall gegeben werde.

H. Fischer und Gr. Leopoldi (20) wiederlegten diese Behauptung und wiesen nach, dass auch andere Metalle die Färbung ergaben. Gleichzeitig schlugen sie eine Verbesserung des Verfahrens vor, indem sie die Zinkreaktion mit Dithizon in schwachsaurer acetatgepufferter Lösung (P_H = 4) durchführten, wobei das Zink eine violettrote Färbung hervorruft.

Ausführung des Verfahrens:

Die zu prüfende schwachsaure Lösung (0,1 – 0,5 ccm) wird tropfenweise mit 5%iger Natriumacetatlösung versetzt, solange bis blaues Kongopapier gerade den Umschlag nach Rot zeigt. Die Lösung wird dann mit 0,5 – 1 ccm der grünen Reagenzlösung (6 mg Dithizon in 100 ccm CCl_4) unterschichtet und gut durchgeschüttelt. Tritt ein Umschlag von grün nach violettrot ein, so ist Zink vorhanden. Es besteht aber auch die Möglichkeit, dass die Metalle Blei, Kadmium, Kupfer, Quecksilber und die Edelmetalle, die ebenfalls eine violette Färbung ergeben können, anwesend sind. Liegt eine violettrote Färbung vor, so trennt man die gefärbte Tetrachlorkohlenstoffschicht im Scheidetrichter ab und schüttelt sie mit 5%iger Essigsäure. Die Tetrachlorkohlenstofflösung wird bei Abwesenheit von Zink sofort grün. Enthält sie jedoch Zink-Dithizon, so erfolgt ein Umschlag von violettrot in eine mehr oder weniger violette Mischfarbe, die in diesem Falle für Zink charakteristisch ist.

Die Tatsache, dass in saurer acetatgepufferter Lösung neben Zink nur noch die Metalle Blei, Kadmium, Kupfer, zweiwertiges Zinn, Quecksilber und die Edelmetalle reagieren, wurde ausgewertet und darauf eine quantitative Bestimmung des Zinks in Wässern aufgebaut.

1.) Aufstellung der Zinkkurve.

Zur Aufstellung der Kurve wurden reine Zinklösungen in Konzentrationen von 0,1 – 1 mg Zink/l aus reinem Zinksulfat und doppelt destilliertem Wasser hergestellt und nach folgender Methode untersucht: 100 ccm der Zinklösung werden zunächst mit verdünnter Ammoniakflüssigkeit (1 Teil konz. NH_3 auf 1000 H_2O) gegen Lakmus neutralisiert und dann mit 2 ccm 2% Salzsäure angesäuert. Nun wird die Lösung mit 5%iger Natriumacetatlösung solange gepuffert bis eine deutliche Rotfärbung von blauem Kongopapier auftritt. Darauf schüttelt man im Scheidetrichter mehrmals mit je 5 ccm Dithizonlösung (6 mg Dithizon in 100 ccm CCl_4) aus, lässt die rotviolett gefärbten Phasen in

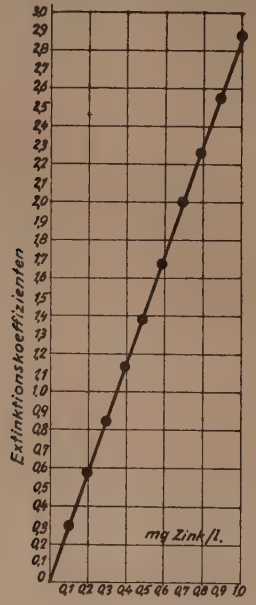
einen Sammelzylinder ab und verfährt mit Ausschütteln solange, bis keine Färbung der grünen Reagenzlösung mehr auftritt. Die rot-violett gefärbte Tetrachlorkohlenstofflösung, die nun alles Zink als Dithizon-Zinkkomplexverbindung gelöst enthält, wird im Sammelzylinder mit reinem Tetrachlorkohlenstoff auf 60 ccm aufgefüllt. Um diese Lösung von überschüssigem Dithizon zu befreien, schüttelt man sie solange mit sehr verdünnter Ammoniaklösung (1 : 1000) aus, bis die ammoniakalische Waschflüssigkeit nicht mehr gefärbt erscheint. Die abgetrennte, gefärbte Lösung wird dann im Stufenphotometer gegen reinen Tetrachlorkohlenstoff gemessen. Nach Anwendung des Filters S61, das sich als das geeignetste erwies, wurden folgende Werte gefunden:

Tabelle 10.

Angewandte Flüssigkeitsmenge 100 ccm.

mg Zink/l.	Lichtdurchlässigk. D %.	Schichtdicke V.	E. Koeffizient k
0,10	50,0	1 cm	0,301
0,20	27,0	1 cm	0,569
0,30	14,0	1 cm	0,857
0,40	27,0	0,5 cm	1,137
0,50	20,0	0,5 cm	1,397
0,60	38,0	0,25 cm	1,681
0,70	31,0	0,25 cm	2,035
0,80	27,0	0,25 cm	2,275
0,90	23,0	0,25 cm	2,553
1,00	19,0	0,25 cm	2,886

Eichkurve für Zink nach Tabelle 10.



Die Werte der Extinktionskoeffizienten liegen, wie aus der Eichkurve ersichtlich ist, alle auf einer geraden Linie, das heisst sie entsprechen dem Lambert-Beer'schen Gesetz.

2.) Die Entfernung von störenden Metallen und endgültiger Arbeitsgang.

Nach der Seite 23 angegebenen Methode, stören neben Blei, Kadmium, Kupfer, zweiwertigem Zinn, auch Quecksilber und die Edelmetalle die Zinkbestimmung, da diese Metalle selbst eine Färbung geben. Da weder Eisen nach Mangan unter jenen Bedingungen reagieren und die Metalle Kadmium, Quecksilber, zweiwertiges Zinn sowie die Edelmetalle praktisch in Wässern nicht vorkommen, lag die Schwierigkeit nur noch darin, die Einwirkung von Blei und Kupfer auszuschalten. Das Kupfer lässt sich durch Extraktion mit Dithizon in schwefelsaurer Lösung entfernen, hierbei reagiert wie bekannt, nur das Kupfer allein. Schwieriger war schon die Entfernung des Bleies. Wohl lässt sich dieses ebenfalls mit Dithizon ausschütteln, doch werden durch die Zugabe von Kaliumcyanidlösung die anderen Metalle, in unserem Falle also das Zink komplex in Lösung gehalten. Der Cyan-Zinkkomplex musste also wieder aufgesprengt werden. Es geschieht dies einfach durch Ansäuern mit Salzsäure und Eindampfen der Lösung bis die freiwerdende Blausäure restlos entfernt ist. Die Bestimmung des Zinks erfolgt nun nach folgendem endgültigen Arbeitsgang:

Sind in der zu untersuchenden Flüssigkeit weder Kupfer noch Blei vorhanden, so kann man wie schon eingangs (Seite 23) beschrieben in saurer acetatgepufferter Lösung sofort mit Dithizon ausschütteln. Besteht aber Verdacht auf Anwesenheit der beiden Metalle, so verfährt man wie folgt: 100 ccm des Wassers oder der Limonade werden zunächst mit verdünnter 0,5 % Ammoniaklösung gegen Lakmuspapier neutralisiert, mit 2 ccm 10% Schwefelsäure angesäuert und mit Dithizonlösung (6 mg Dithizon auf 100 CCl_4) solange ausgeschüttelt, bis alles Kupfer entfernt ist, was an der Farbe des Reagenzes (das Reagenz muss rein grün bleiben) zu erkennen ist. Darauf wird die Lösung filtriert, nach Zugabe von 0,5 g Zitronensäure wieder mit 0,5%iger Ammoniaklösung neutralisiert und nach Zusatz von 0,5 – 1 ccm 5 % Kaliumcyanidlösung mit Dithizonlösung ausgeschüttelt. Auch hier erfolgt die Ausschüttung mit Dithizonlösung solange, bis keine Verfärbung des Reagenzes mehr eintritt, bis also alles Blei extrahiert ist. Die filtrierte Lösung enthält nunmehr das Zink als Cyan-Zinkkomplexverbindung. Sie wird nun mit verdünnter Salzsäure angesäuert und auf etwa $^1/_{10}$ ihres Volumens eingedampft. Dabei wird die Blausäure vollständig beseitigt und das Zink kann nunmehr in der wieder auf 100 ccm aufgefüllten Lösung bestimmt werden. Zu diesem Zweck wird sie mit 0,5%iger Ammoniaklösung gegen Lakmuspapier neutralisiert, erneut mit 2 ccm 2% Salzsäure angesäuert und mit 5%iger Natriumacetatlösung bis zum Umschlag von blauem Kongopapier auf deutlich Rot gepuffert. Darauf schüttelt man im Scheidetrichter mehrmals mit je 5 ccm Dithizonlösung aus, lässt die rotviolett gefärbten Phasen in einen Sammelzylinder ab und verfährt mit Ausschütteln solange, bis keine Färbung der grünen Reagenzlösung mehr auftritt. Die rotviolett

gefärbte Tetrachlorkohlenstofflösung, die nun alles Zink als Dithizon-Zinkkomplexverbindung gelöst enthält, wird im Sammelzylinder mit reinem Tetrachlorkohlenstoff auf 60 ccm aufgefüllt. Um diese Lösung von überschüssigem Dithizon zu befreien, schüttelt man sie solange mit sehr verdünnter Ammoniaklösung (1 : 1000) aus, bis die ammoniakalische Waschflüssigkeit nicht mehr gefärbt erscheint. Die abgetrennte, gefärbte Lösung wird dann im Stufenphotometer gegen reinen Tetrachlorkohlenstoff gemessen.

Die Berechnung des Zinkgehaltes erfolgt auf dieselbe Weise wie die Berechnung von Blei und Kupfer. Zugrunde gelegt werden hierbei die Werte der Tabelle 10 und die Eichkurve für Zink nach der Tabelle 10.

Nach der angegebenen Methode lassen sich Zinkmengen von 0,1 bis 1 mg Zink/l bestimmen. Sind grössere Mengen Zink vorhanden, so muss entsprechend verdünnt werden. Die folgende Tabelle gibt Aufschluss über den ungefähren Verbrauch an Reagenzlösung für die einzelnen Zinkkonzentrationen.

Tabelle 11.

Vorhandene Zinkmengen mg Zink/l.	Ungefährer Verbrauch an Dithizonlösung in ccm.
0,10	10 – 12
0,20	13 – 14
0,30	15 – 16
0,40	17 – 18
0,50	19 – 21
0,60	22 – 23
0,70	24 – 25
0,80	26 – 27
0,90	28 – 30
1,00	31 – 34

3.) Anwendung der Methode auf die Zinkbestimmung in Leitungswasser, Minralwasser und Limonaden.

Die oben angegebene Methode wurde hier praktisch angewandt und die Bestimmung des Zinks in Leitungswasser, Mineralwasser und Limonaden durchgeführt. Den angewandten Flüssigkeiten wurde eine bestimmte Menge Zink zugesetzt und dann versucht diese Menge quantitativ wiederzufinden. Auch hier stören gefärbte Limonaden nicht, sobald die Farben unlöslich in Tetrachlorkohlenstoff sind.

Beleganalyse 14.

Angewandte Menge Mineralwasser oder Leitungswasser 100 ccm.

Zugegebene Zinkmenge mg Zink/l.	Gefundene Zinkmenge mg Zink/l.
0,10	0,08
0,30	0,29
0,70	0,68
1,00	0,97

Beleganalyse 15.

Angewandte Flüssigkeitsmenge 100 ccm.

	Zugegebene Zinkmenge mg Zink/l.	Gefundene Zinkmenge mg Zink/l.
in roter Limonade	0,30	0,29
in gelber Limonade	0,70	0,68
in grüner Limonade	1,00	0,97

Die Beleganalysen zeigen deutlich, dass die Bestimmung des Zinks in Leitungswasser, Mineralwasser und Limonaden praktisch sehr gut durchführbar ist. Dass auch die Anwesenheit von grösseren Mengen Kupfer und Blei die Zinkbestimmung nicht stört, zeigt folgende Tabelle.

Beleganalyse 16.

Angewandte Flüssigkeitsmenge 100 ccm.

Vorhandene Menge Zink mg Zink/l.	Zugesetzte Menge mg/l.		Gefundene Menge Zink mg Zink/l.
	Blei	Kupfer	
0,10	1,0	1,0	0,08
0,50	3,0	3,0	0,47
0,70	3,0	5,0	0,67
1,00	5,0	10,0	0,96

E. Die Bestimmung von Zink, Kupfer und Blei nebeneinander in einem Arbeitsgang.

Eine quantitative Bestimmung der Metalle Zink, Kupfer und Blei nebeneinander in einem Arbeitsgang würde nicht nur eine grosse Zeitersparnis bedeuten, sondern auch gleichzeitig gestatten, die Menge der Untersuchungsflüssigkeit auf ein Mindestmass herabzusetzen. Es wurde deshalb eine Methode ausgearbeitet, die es ermöglicht, die drei Metalle nebeneinander zu bestimmen.

Arbeitsgang :

100 ccm der Untersuchungsflüssigkeit werden mit 2 ccm 10 %iger Schwefelsäure angesäuert und zunächst mit 5 ccm Dithizonlösung ausgeschüttelt. Es tritt eine violettrote Färbung des Kupfer-Dithizonkomplexes auf. Die gefärbte Lösung lässt man ab, sammelt sie in einem Stöpselzylinder und schüttelt die Untersuchungsflüssigkeit erneut mit 5 ccm Reagenzlösung aus. Die Ausschüttelung mit der Dithizonlösung erfolgt solange, bis diese nicht mehr gefärbt wird und rein grün bleibt. Die gesammelten rotviolett gefärbten Auszüge reinigt man von dem überschüssigen Dithizon indem man sie zweimal mit je 10 ccm wässriger ammoniakalischer Lösung (1 : 200) ausschüttelt. Die Waschflüssigkeit darf nach dem Ausschütteln nicht mehr oder kaum noch gelb gefärbt erscheinen. Nun füllt man die so behandelten Kupfer-Dithizonauszüge mit reinem Tetrachlorkohlenstoff auf 30 ccm auf, säuert mit 5 ccm verdünnter Schwefelsäure an, schüttelt gut durch und bringt die abgetrennte, gefärbte Lösung im Stufenphotometer zur Messung. Gemessen wird gegen reinen Tetrachlorkohlenstoff bei Filter S 53. Die vom Kupfer befreite Lösung wird nun filtriert, mit 0,5 g Zitronensäure versetzt und mit 0,5 % wässriger Ammoniaklösung bis zum Umschlag auf Lakmuspapier titriert. Darauf gibt man die Flüssigkeit in einen Scheidetrichter, fügt zunächst 0,5 ccm 5 % Kaliumcyanidlösung und 5 ccm Dithizonlösung hinzu und schüttelt aus. Es tritt die charakteristische Rotfärbung der Blei-Dithizonkomplexverbindung auf. Zeigt sich nicht die reine Rotfärbung, was man leicht durch Vergleiche mit einer reinen Bleilösung, die man auf dieselbe Weise behandelt hat, feststellen kann, oder trifft ein gelbbrauner Farbton auf, der durch Eisen verursacht wird, so fügt man abermals Kaliumcyanidlösung in Anteilen von 0,1 – 0,2 ccm zu, schüttelt und verfährt damit solange, bis der richtige Farbton auftritt. Das Zugeben der Kaliumcyanidlösung muss sehr vorsichtig geschehen, da bei einem Ueberschuss derselben Farbschwächungen eintreten können. Die rote Blei-Dithizonlösung trennt man nun ab, setzt 5 ccm Reagenzlösung hinzu und schüttelt erneut aus. Mit dem Ausschütteln und Abtrennen verfährt man solange bis keine Rofärbung mehr auftritt und das neu zugegebene Reagenz rein grün gefärbt bleibt. Die rotgefärbten Blei-Tetrachlorkohlenstofflösungen, die man im Stöpselcylinder gesammelt hat, werden nun zweimal mit je 10 ccm 0,5 % wässriger Ammoniaklösung ausgeschüttelt um das überschüssige freie Dithizon zu entfernen. Die ammoniakalische Waschflüssigkeit darf nicht mehr gelb gefärbt sein. Die so gereinigte Blei-Tetrachlorkohlenstofflösung füllt man mit reinem Tetrachlorkohlenstoff auf 30 ccm auf, säuert mit 5 ccm 12,5 % Salzsäure an, schüttelt gut durch und bringt die nunmehr grün

gefärbte Lösung im Stufenphotometer bei Filter S61 zur Messung. Gemessen wird gegen reinen Tetrachlorkohlenstoff. Die Untersuchungsflüssigkeit enthält nunmehr nur noch das Zink als Cyan-Zinkkomplexverbindung. Nach dem Filtrieren wird sie mit verdünnter Salzsäure angesäuert und auf $^1/_{10}$ ihres Volumens eingedampft. Dabei wird die Blausäure vollständig beseitigt und das Zink kann nunmehr in der wieder auf 100 ccm aufgefüllten Lösung bestimmt werden. Zu diesem Zweck wird sie mit 0,5 % wässriger Ammoniaklösung gegen Lakmuspapier neutralisiert, erneut mit 2 ccm 2% Salzsäure angesäuert und mit 5%iger Natriumacetatlösung bis zum Umschlag von blauem Kongopapier auf deutlich Rot gepuffert. Darauf schüttelt man im Scheidetrichter mehrmals mit je 5 ccm Dithizonlösung aus, lässt die rotviolett gefärbten Phasen in einen Stöpselzylinder ab und verfährt mit dem Ausschütteln solange, bis keine Färbung der grünen Reagenzlösung mehr auftritt. Die rotviolett gefärbten Tetrachlorkohlenstofflösungen, die nun alles Zink als Dithizon-Zinkkomplexverbindung gelöst enthalten, werden mit reinem Tetrachlorkohlenstoff auf 60 ccm aufgefüllt. Um diese Lösung von überschüssigem Dithizon zu befreien, schüttelt man sie solange mit sehr verdünnter wässriger Ammoniaklösung (1 : 1000) aus, bis die ammoniakalische Waschflüssigkeit nicht mehr gelb gefärbt erscheint. Die abgetrennte, gefärbte Lösung wird im Stufenphotometer gegen reinen Tetrachlorkohlenstoff bei Filter S61 gemessen.

Beleganalyse 17.

Angewandte Flüssigkeitsmenge 100 ccm.

Zugesetzte Menge mg/l.			Gefundene Menge mg/l.		
Zink	Kupfer	Blei	Zink	Kupfer	Blei
2,00	7,00	4,00	2,20	7,00	3,80
6,00	5,00	3,00	5,80	4,90	2,90
0,20	0,70	0,40	0,23	0,70	0,39
0,60	0,50	0,30	0,57	0,51	0,31

Die Beleganalysen zeigen, dass die Bestimmung der Metalle, Zink, Kupfer und Blei nebeneinander in einem Arbeitsgang nach der oben angegebenen Methode sehr gut durchführbar ist und dass die gefundenen Werte sehr genau sind.

Zusammenfassung.

Die qualitative Methode zur Bestimmung des Zinks von H. Fischer und Gr. Leopoldi (20) wurde ausgebaut zu einer quantitativen stufenphotometrischen Bestimmung. Die Gültigkeit des Lambert-Beer,schen Gesetzes wurde durch ein Eichtabelle (10) sowie durch eine Eichkurve (10) erwiesen. Weiterhin wurde die Bestimmung des Zinks neben Kupfer und Blei durchgeführt und die Brauchbarkeit des Verfahrens durch Beleganalysen bestätigt. Die Methode wurde auf Untersuchungen von Zink in Mineralwasser und Limonaden ausgedehnt. Zum Schluss wurde ein Verfahren ausgearbeitet, das gestattet, Zink neben Blei und Kupfer und diese drei Metalle nebeneinander in einem Arbeitsgang zu bestimmen.

Nach Abschluss der Arbeit erschien eine eingehende Arbeit von H. Fischer und Gr. Leopoldi (28) über die quantitative Bestimmung von Zink. Die Verfasser haben darin eine quantitative Zinkbestimmung mit Dithizon angegeben. Nach diesem Verfahren werden alle anderen Metalle ausser Zink durch Natriumthiosulfat und Kaliumcyanid getarnt. (Zinn muss als vierwertiges Zinn vorliegen). Sie haben somit eine für Zink spezifische Dithizonreakton ermittelt. Da im allgemeinen bei der Untersuchung von Trinkwässern und anderen Lebensmitteln, die durch Thiosulfat getarnten Metalle nicht vorkommen, so dürfte für diese Fälle das von mir ausgearbeitete Verfahren ausreichend sein, umsomehr als mit ihm die Metalle Zink, Kupfer und Blei nebeneinander in einem Arbeitsgang bestimmt werden können.

F. Kolorimetrische Bestimmung der Milchsäure.

Zur Bestimmung der Milchsäure in Lebensmitteln werden in der Lebensmittelchemie sowohl titrimetrische als auch kolorimetrische Verfahren angewandt. So wird zur Bestimmung der Milchsäure in Wein die amtliche Methode durchgeführt, die im wesentlichen auf folgendem Prinzip beruht : die organischen Säuren bilden mit Bariumchlorid Salze, die in Wasser löslich sind in Alkohol dagegen unlöslich. Eine Ausnahme hierbei macht die Milchsäure, deren Bariumsalz in Alkohol gelöst bleibt. Man schüttelt deshalb nach dem Abdestillieren der flüchtigen Säuren und des Alkohols den Wein mit Bariumchlorid aus, neutralisiert mit Kohlensäure und dampft die Flüssigkeit ein. Durch Zusatz der dreifachen Menge 96% Alkohol wird dann eine Füllung der Bariumsalze bewirkt. Die Salze werden hierauf abfiltriert und das Filtrat mit Natriumsulfatlösung behandelt, wodurch die Milchsäure in Freiheit gesetzt wird. Darauf wird erneut filtriert und eine bestimmte Menge des milchsäurehaltigen Filtrates in der Platinschale bis zur Trockene eingedampft, alsdann verkohlt und stark geglüht. Durch Zusatz einer bestimmten Menge n/4 Salzsäure und Rücktitration mit n/4 Kalilauge wird dann der Gehalt an Milchsäure bestimmt. J. Tillmanns und Weil (21) haben dieses Verfahren zu einer Stufentitration ausgebaut. Eine kolorimetrische Bestimmung der Milchsäure im Blut wurde von B. Mendel und J. Goldscheider (22) durchgeführt, indem sie nach Entfernung der Eiweisstoffe und der Kohlenhydrate die Milchsäure im Blutserum bestimmten. Sie führen die Milchsäure durch heisse konzentrierte Schwefelsäure in Acetaldehyd über und setzen darauf 0,125% Veratrollösung hinzu. Die dadurch entstehende Rotfärbung entspricht in ihrer Stärke der Menge des gebildeten Aldehyds und damit auch der Menge der vorhanden gewesenen Milchsäure. Durch Vergleich mit einer Lithiumlactatlösung bekannten Gehaltes, die genau so behandelt wurde, stellten sie den Gehalt an Milchsäure fest. J. Fuchs (23) verbesserte diese Methode, indem er die Konzentration der Veratrollösung auf 20% erhöhte und dadurch immer konstante Werte erhielt.

Durch diese Arbeiten veranlasst, habe ich nun versucht, eine kolorimetrische Methode auszuarbeiten, die es gestattet mit Hilfe des Stufenphotometers eine genaue Bestimmung der Milchsäure durchzuführen.

1.) Die Aufstellung der Milchsäurekurve und des Arbeitsganges.

Zur Aufstellung der Kurve wurde das von B. Mendel und J. Goldscheider (2) und von J. Fuchs (23) verbesserte Verfahren zugrunde gelegt. Nach diesen Arbeiten wird die Bestimmung der Milchsäure in Blut nach folgender Methode ausgeführt: 1 ccm Blut + 6 ccm Wasser werden mit 1 ccm frisch hergestellter 5 % Metaphosphorsäure kräftig geschüttelt, einige Minuten stehen gelassen und dann filtriert um so die Eiweisstoffe zu entfernen. Darauf werden 4 ccm von dem wasserklaren eiweissfreien Filtrat (Probe mit Sulfosalicylsäure) mit 1 ccm Kupfersulfatlösung und 1 g Calciumhydroxyd versetzt und unter häufigem Durchschütteln 30 Minuten stehen gelassen. Nun zentrifugiert man und filtriert von dem Bodensatz ab. Auf diese Weise

werden die Kohlenhydrate entfernt und in dem so erhaltenen Serum wird nun die Bestimmung der Milchsäure durchgeführt. In ein Stöpselglas, in das man 3 ccm konzentrierte Schwefelsäure (Kahlbaum) gegeben hat, und das man etwa 15 Minuten in Eiswasser gekühlt hat, werden 0,5 ccm des Serums pipettiert. Darauf stellt man das Glas genau 4 Minuten in ein stark siedendes Wasserbad und kühlt dann sofort in Eiswasser. Nach etwa 5 Minuten setzt man genau 0,1 ccm 20% Veratrollösung zu und schüttelt kurz durch. In der bis dahin farblos gewesenen Flüssigkeit tritt allmählich eine dem Milchsäuregehalt entsprechende Rotfärbung auf, die nach genau 20 Minuten im Audenrieth-Kolorimeter abgelesen wird.

Nach obiger Methode behandelte ich Standardlösungen von 0,05 – 0,5 g Milchsäure im Liter. Die Standardlösungen wurden hergestellt aus Lithiumlactat und doppelt destilliertem Wasser (0,108 g Lithiumlactat entsprechen 0,1 g Milchsäure). Im Eisschrank aufbewahrt halten die Lösungen mehrere Tage. Statt 0,5 ccm wurde 1 ccm Flüssigkeit angewandt und dementsprechend auch die Menge der zuzufügenden konzentrierten Schwefelsäure und der Veratrollösung verdoppelt. Die Zeitangaben wurden genau eingehalten, doch wurde nach dem Zugeben der Standardlösung zu der konzentrierten Schwefelsäure das Gemisch nicht sofort in das siedende Wasserbad gestellt, sondern noch etwa 5 Minuten im Eiswasser abgekühlt. Die nach dem Veratrolzusatz sich rot färbende Schwefelsäure wurde im Stufenphotometer gemessen. Es ergab sich daraus folgender Arbeitsgang:

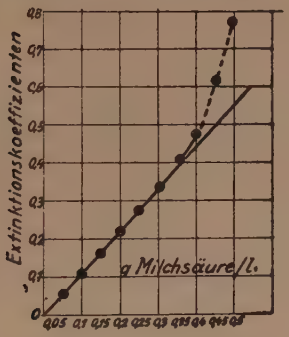
1 ccm der milchsäurehaltigen Lösung pipettiert man in ein Stöpselglas, in das man vorher 6 ccm konzentrierte Schwefelsäure (Merck) gegeben hatte und das man mit der Schwefelsäure etwa 15 Minuten in Eiswasser gekühlt hatte. Darauf schüttelt man gut durch und kühlt abermals 5 Minuten in Eiswasser. Nun stellt man das Glas mit der Flüssigkeit in ein stark siedendes Wasserbad und erhitzt genau 4 Minuten. Nach der Herausnahme wird es sofort in ein mit Eisstückchen gefülltes Becherglas gestellt und 5 Minuten lang gekühlt. Aus einer Pipette fügt man 0,2 ccm 20% Veratrollösung (Veratrol gelöst in absolutem Alkohol) hinzu, schüttelt öfters durch und bringt nach 20 Minuten die nunmehr rotgefärbte Flüssigkeit im Stufenphotometer zur Messung. Gemessen wird gegen reine konz. Schwefelsäure. Zu beachten ist hierbei, dass die Schwefelsäure nach dem Zusatz der Veratrollösung nicht zu stark geschüttelt wird, da sich sonst Luftbläschen bilden, die den Ablesewert im Stufenphotometer stark beeinträchtigen können. Ausserdem muss darauf geachtet werden, dass die angewandte Schwefelsäure immer gut verschlossen aufbewahrt wird, damit sie kein Wasser anziehen kann. Die Aufbewahrung geschieht am besten in einer Flasche mit Ueberfangkappe, deren Innenseite man mit der Schwefelsäure benetzt.

Nach dem oben beschriebenen Arbeitsgang wurden die Standardlösungen untersucht, die auftretende Rotfärbung im Stufenphotometer unter Anwendung von Filter S53, das sich als das am wenigsten lichtdurchlässige erwies, gemessen und die Ablesewerte in folgender Tabelle festgelegt.

Tabelle 1.

Angewandte Milchsäuremenge g Milchsäure/l.	D %	Schichtdicke V.	E.Koeffizient k
0,05	75,0	2 cm	0,062
0,10	77,0	1 cm	0,114
0,15	68,0	1 cm	0,167
0,20	60,0	1 cm	0,222
0,25	53,0	1 cm	0,276
0,30	45,0	1 cm	0,347
0,35	38,0	1 cm	0,420
0,40	33,0	1 cm	0,481
0,45	24,0	1 cm	0,620
0,50	17,0	1 cm	0,770

Eichkurve nach Tabelle 1.



Aus der Tabelle sowie aus der Kurve geht deutlich hervor, dass die Extinktionskoeffizienten der Werte von 0,05 – 0,4 g/1 auf einer Geraden liegen, dass sie also dem Lambert-Beer'schen Gesetz entsprechen. Es zeigt sich aber auch, dass die Extinktionskoeffizienten der Werte über 0,4 g/1 nicht mehr proportional zunehmen, sondern dass eine beständige Zunahme der Absorptionskraft eintritt. Ich habe deshalb die Bestimmung der Milchsäure auf die Mengen von 0,05 – 0,4 g/l festgelegt. Zeigt sich bei einer Bestimmung, dass der Wert über 0,4 g/l beträgt, so muss entsprechend verdünnt werden.

2.) Anwendung der Methode zur Bestimmung der Milchsäure in Limonade.

Zur Bestimmung der Milchsäure in Limonade wurde eine künstliche Limonade hergestellt, dieser entsprechende Mengen Lithiumlactat zugesetzt und dann versucht nach obiger Methode die Milchsäure quantitativ wiederzufinden.

Beleganalyse 1.

Zugesetzte Menge Milchsäure g Milchsäure/l.	Gefundene Menge Milchsäure g Milchsäure/l.
0,10	0,10
0,15	0,16
0,20	0,22
0,25	0,26
0,35	0,37
0,40	0,41

Die Beleganalysen zeigen, dass die gefundenen Werte sehr gut mit den zugesetzten Mengen übereinstimmen. Die Methode ist also brauchbar zur Bestimmung der Milchsäure in Limonaden zum Beispiel in Chabeso.

Beleganalyse 2.

Angewandte Menge Chabeso 1 ccm.

Gefundene Menge Milchsäure g Milchsäure/l.	Vorhandene Menge Milchsäure g Milchsäure/l.
1,0	1,02
0,98	1,02

Berechnung des Milchsäuregehaltes.

1 ccm der milchsäurehaltigen Flüssigkeit wird wie oben angegeben ist behandelt und die rotgefärbte Lösung im Stufenphotometer gemessen. Es ergibt sich zum Beispiel eine Ablesung von 77% bei einer Küvette von 1 ccm. Zunächst wird der Extinktionskoeffizient k bestimmt. $k = 1 - \log 77 = 1{,}00000 - 0{,}88649 = 0{,}11351$. Beim Vergleich mit der Tabelle 1 zeigt es sich, dass dieser Wert einem Milchsäuregehalt von 0,1 g Milchsäure/l entspricht. Beträgt nun die Ablesung bei der Küvette von 1 cm 73%. $k = 0{,}13668$ also ein Wert der nicht in der Tabelle vorkommt, so berechnet man den Milchsäuregehalt nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz.

$k_1 : k_2 = c_1 : c_2$.

$k_1 = 0{,}11351$, $k_2 = 0{,}13668$, $c_1 = 0{,}10$, $c_2 = x$, $x = \frac{0{,}1 \cdot 0{,}13668}{0{,}11351}$,

$x = 0{,}1204$ g Milchsäure/l.

3.) Anwendung der Methode zur Bestimmung der Milchsäure in Wein.

Vorversuche ergaben, dass Glycerin, Brenztraubensäure und Zitronensäure nach der vorstehenden Methode Färbungen mit Veratrol gaben Nach Anwendung der amtlichen Methode, die eingangs schon beschrieben wurde, lassen sich wohl die beiden Säuren ausschalten,

indem man ihre Bariumsalze durch Zugabe von Alkohol ausfällt. Eine Entfernung des Glyzerins dagegen ist bedeutend schwieriger. Es wurde versucht, den Einfluss des Glycerins auf folgende Weise auszuschalten:

Nach dem Abdestillieren der flüchtigen Säuren und des Alkohols wurde der Wein mit Bariumchloridlösung geschüttelt, um so die Bariumverbindungen der organischen Säuren zu erhalten. Nach dem Einengen wurde die dreifache Menge 96% Alkohol zugegeben und so eine Ausfällung des Bariumsalzes bewirkt. Es fallen alle Bariumsalze der organischen Säuren aus mit Ausnahme des Bariumlactates. In der alkoholischen Lösung ist nunmehr nur noch Milchsäure gebunden als Bariumlactat vorhanden und daneben Glycerin. Der Alkohol wurde abdestiliert und der Rückstand mit Wasser aufgenommen. Um das Bariumlactat von dem Glycerin zu trennen, wurde die Lösung zunächst mit Zinkoxyd, als dies zu keinem Erfolg führte, mit Zinksulfat und Zinkacetat ausgeschüttelt um so das Zinksalz der Milchsäure zu erhalten und dieses dann durch Zugabe von Alkohol, in dem es unlöslich ist, zur Ausfällung zu bringen. Nach erneuter Auflösung des das Zinkacetat enthaltenden Niederschlages mit Wasser und nach Ueberführung des Zinklactates in Natriumlactat wurde das nunmehr von Glycerin befreite Milchsäuresalz nach der auf Seite 32 angegebenen Methode bestimmt. Die Versuche ergaben aber, dass nur ein Teil der Milchsäure wiedergefunden wurde, dass also das Verfahren in dieser Form nicht brauchbar war. Da eine Abtrennung des Glycerins durch Aether auch nicht zum Ziel führte, so ist die Veratrolmethode zur Bestimmung von Milchsäure in Wein nicht anwendbar.

Da nach der auf Seite 32 angegebenen Methode die in der Milch vorhandene Milchsäure in freier oder gebundener Form direkt bestimmt werden kann und ausserdem sich diese Bestimmung verhältnismässig einfach durchführen lässt, so wurde versucht, ein Verfahren zur Bestimmung der Milchsäure in Milch und damit zum Nachweis einer stattgefundenen Neutralisation der Milch auszuarbeiten.

4.) Anwendung der Methode zum Nachweis der Neutralisation der Milch.

Wenn Milch säuert, dann bildet sich durch bakterielle Tätigkeit Milchsäure, die sofort mit dem vorhandenen Caseincalcium in Reaktion tritt unter Bildung von Calciumlactat und freier Caseinsäure. Stellt man aus frischer Milch ein geeignetes Serum her, so wird man darin keinerlei Milchsäure antreffen, da die Milchsäure nicht zu den orginären Bestandteilen der Milch gehört. Stellt man dagegen ein Serum aus einer sauren Milch her, so findet man darin die während der Gärung gebildete Milchsäure in Form des Calciumlactates. Der Milchsäuregehalt eines Milchserums ist daher ein Mass für die eingetretene Zersetzung, je mehr Milchsäure bei der Säuerung gebildet wird, desto mehr Lactat wird man im Serum wiederfinden. Auf Grund diesef Ueberlegungen habe ich mit der Veratrolmethode ein Verfahren zur Erfassung der bei der Säuerung gebildeten Menge Milchsäure ausgearbeitet. Da beim Neutralisieren der Milch nur die Caseinsäure neutralisiert wird, an dem vorliegenden Calciumlactatgehalt jedoch keine Aenderung eintritt, so kann auch die vorliegende Methode zum Nachweis der Neutralisierung herangezogen werden, wenn man die im

Serum gefundene Menge Milchsäure in Beziehung setzt zu dem tatsächlich ermittelten Säuregrad. Weist zum Beispiel eine Probe den normalen Säuregrad der frischen Milch auf, und weist das Serum nur geringe Mengen Milchsäure auf, so liegt eine frische Milch vor, weist es dagegen erhebliche Milchsäuremengen auf, dann handelt es sich um neutralisierte Milch. Aus dem Milchsäuregehalt lässt sich auf den Säurezustand der Milch vor der Neutralisation ein Schluss ziehen oder mit anderen Worten feststellen, um wieviel Grade neutralisiert worden ist.

Zum Nachweis über Neutralisation der Milch gibt es im wesentlichen zwei Verfahren, das eine die Stufentitration nach W. Luckenbach (24), das andere die Bestimmung der Milchsäure durch Leitfähigkeitsabfall im Eisenserum nach R. Strohecker (25). Auch F. Hautsch (26) hat über den Nachweis der Neutralisierung der Milch gearbeitet. Wenn ich trotzdem eine neue Methode ausgearbeitet habe, so geschah es wegen der Einfachheit der Durchführung und der Exaktheit, die die Methode auszeichnet.

Es wurden Versuche mit frischer, schwach gesäuerter und stärker gesäuerter Milch angestellt. Da das von J. Tillmans und R. Strohecker (27) verwandte Eisenserum bei der Veratrolreaktion Störungen bewirkte, habe ich das Methaphosphorsäureserum angewandt, das wie die Versuche zeigten, befriedigende Ergebnisse lieferte.

Arbeitsmethode :

Zu 50 ccm Milch werden zunächst 20 ccm 5% frisch bereiteter Metaphosphorsäure zugesetzt und etwa 15 Minuten gut durchgeschüttelt. Dadurch werden sämtliche Eiweiss- und Fettstoffe abgeschieden. Nach dem Abfiltrieren versetzt man 20 ccm des Filtrates mit 10 ccm kalt gesättigter und 1 : 1 mit Wasser verdünnter Kupfersulfatlösung und mit 10 g Calciumhydroxyd, lässt unter Umschütteln 30 Minuten stehen, zentrifugiert dann und filtriert die klar überstehende Flüssigkeit ab. Auf diese Weise werden die Kohlenhydrate (Milchzucker) aus der Milch entfernt. Die Milchsäure bestimmt man dann nach der oben erwähnten Methode. Man pipettiert 1 ccm des Serums in ein Stöpselglas, das 6 ccm konzentrierte Schwefelsäure enthält und das man mit der Schwefelsäure etwa 15 Minuten in Eiswasser gekühlt hat, schüttelt gut durch und kühlt etwa 5 Minuten im Eiswasser. Darauf stellt man das Stöpselglas genau 4 Minuten in ein stark siedendes Wasserbad, kühlt abermals 5 Minuten in Eiswasser und setzt darauf 0,2 ccm 20 % Veratrollösung (Veratrol gelöst in absoluten Alkohol) zu. Unter öfterem vorsichtigem Umschwenken lässt man das Gemisch genau 20 Minuten stehen und bringt dann die rotgefärbte Lösung im Stufenphotometer bei Filter S53 zur Messung. Gemessen wird gegen reine konzentrierte Schwefelsäure.

Es zeigte sich wie aus unten stehender Tabelle ersichtlich ist, dass normale Milch mit einem Säuregrad von 6,0–7,0 nach Soxleth-Henkel kaum eine Färbung ergab, das heisst, dass so gut wie keine Milchsäure vorhanden ist. Milch dagegen mit Säuregraden von 8,0–10,0 und darüber gab sehr starke Färbungen, was aus den niedrigen Ablesewerten hervorgeht.

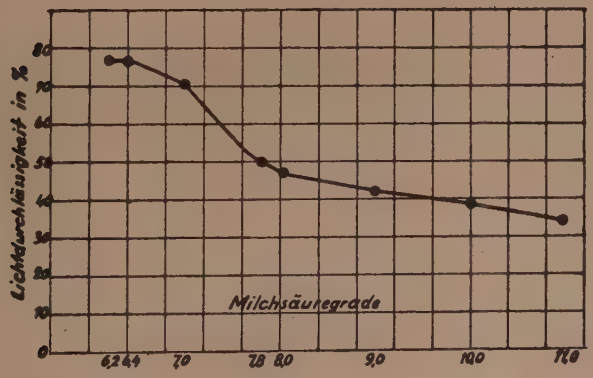
Tabelle 2.

Angewandte Menge Milch 50 ccm.

Milch von Säuregrad	Lichtdurchlässigkeit D %	Schichtdicke V in cm	E. Koeffizient k	Milchsäuregehalt g/l.
6,2	76	1	0,119	0,221
6,4	77	1	0,113	0,214
7,0	70	1	0,155	0,278
7,8	50	1	0,301	0,573
8,0	47	1	0,328	0,625
9,0	43	1	0,367	0,667
9,0	43	1	0,367	0,667
10,0	39	1	0,409	0,715
11.0	35	1	0,456	0,797

Die Werte der Tabelle wurden in ein Kurvensystem eingetragen. Die Kurve gibt ein anschauliches Bild über den Fortgang der Säuerung der Milch. Während zwischen den Säuregraden 6–7 nur eine langsame Zunahme der Milchsäure stattfindet, steigt der Milchsäuregrad zwischen den Säuregraden 7–8 wesentlich schneller, um dann zwischen den Säuregraden 8–11 wieder in ein langsames Tempo überzugehen.

Säuerungskurve.



Hat man Verdacht auf Neutralisation, so braucht man nur nach der vorgeschriebenen Methode die Lichtdurchlässigkeit D beziehungsweise den Milchsäuregehalt zu bestimmen und kann dann durch Vergleich mit dem Säuregrad feststellen, ob tatsächlich eine Neutralisation vorliegt. Eine Milch mit einem Säuregrad zum Beispiel von 6 Grad, die eine Lichtdurchlässigkeit D von 39 % aufweist, ist neutralisiert, denn eine Milch mit einer Lichtdurchlässigkeit von 39 % beziehungsweise

einem Milchsäuregehalt von 0,715 g/l entspricht einem Säuregrad von 10 Grad, tatsächlich wurde jedoch eine Säuregrad von 6 Grad ermittelt. Es ergibt sich somit daraus, dass die Milch ursprünglich 10 Grad aufgewiesen hat und um 4 Grad herunter neutralisiert worden ist.

Beleganalyse 3.

Aangewandte Menge Milch 50 ccm.

Tatsächl. Säure-grad der Milch	D %	Milch-säure-gehalt g/l	Ursprüngl. Säure-grad der Milch	Es wurde neutra-lisiert um Säuregrad	Es wurde be-rechnet, um wieviel Säuregrad neutralisiert wurde
6,0	35,0	0,797	11,0	5,0	5,0
6,5	35,0	0,797	11,0	4,5	4,8
6,0	39,0	0,715	10,0	4,0	4,0
6,5	39,0	0,715	10,0	3,5	3,2
6,5	43,0	0,667	9,0	2,5	2,6

Zusammenfassung.

Das von B. Mendel und J. Goldscheider (22) ausgearbeitete und von J. Fuchs (23) verbesserte Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Milchsäure im Blut mit Hilfe von Veratrol wurde ausgebaut zu einer quantitativen stufenphotometrischen Bestimmung der Milchsäure in Lebensmitteln. Die Gültigkeit des Lambert-Beer'schen Gesetzes wurde durch eine Eichtabelle (1) sowie durch eine Eichkurve erwiesen. Untersucht wurden Limonaden und Chabeso. Die Brauchbarkeit des Verfahrens wurde durch Beleganalysen bestätigt.

Es wurden weiterhin Versuche angestellt um die Milchsäure im Wein zu bestimmen, doch zeigte es sich, dass bei der Entfernung des Glycerins ein grosser Teil der Milchsäure verloren geht, sodass das Verfahren für diesen Zweck nicht anwendbar ist.

Zum Schlusse wurde mit Hilfe der Methode ein Nachweis über stattgefundene Neutralisation von Milch durchgeführt. Dabei ergab sich, dass frische Milch nur wenig, angesäuerte Milch dagegen beträchtliche Milchsäuremengen enthielt. Aus dem Verhältnis der gefundenen Lichtdurchlässigkeit bzw. des Milchsäuregehaltes und dem Milchsäuregrad konnte der Nachweis einer stattgefundenen Neutralisation erbracht werden und gleichzeitig festgestellt werden um wieviel Säuregrade die Milch herunter neutralisiert wurde.

Literaturverzeichnis.

(1) L. W. WINKLER, Ztschr. f. angew. Chem. 1913, 26, 38.
(2) C. REESE u. J. DROST, Ztschr. f. angew. Chem. 1914, 27, 307.
(3) L. GRUNHUT, Trinkwasser und Tafelwasser, 1920, 543, 544.
(4) H. FISCHER und GR. LEOPOLDI, Wissensch. Veröffentlichungen a. d. Siemens-Konzern, 1933, 12, Heft 1.
(5) H. FISCHER, Ztschr. f. angew. Chem. 1934, 40, 685.
(6) Handbuch der Nahrungsmittelchemie von A. Bömer, A. Juckenack und J. Tillmans.
(7) ZEISS, Jena, Katalog Mess. 430 d. u. e.
(8) H. KELLER, Dissertation Frankfurt a. Main, 1933.
(9) K. BREITWIESER, Dissertation Frankfurt a. Main, 1935.
(10) M. H. CHEFTEL et Mlle M. L. PIGEAUD, Anales d. Falsificationes et des Fraudes, 1936, 326.
(11) H. BOHNENKAMP und W. LINNEWEH, deutsches Archiv f. klinische Medizin, 1933, 175, 157.
(12) P. SCHMIDT und Mitarbeiter, Ztschr. f. experim. Med. 1934, 94, 1.
(13) SEELKOPF und TAEGER, Ztschr. f. experim. Med. 1933, 91, 539.
(14) J. KRAUS, Ztschr. f. experim. Med. 1935, 95, 434.
(15) D. BEHRENS und H. TAEGER, Archiv f. klin. Med. 1935, 96, 282.
(16) E. EEGRIWE, Ztschr. f. analyt. Chem. 1928, 74, 228.
(17) W. H. CONE und L. C. CADY, Journ. Americ. Chem. Soc. 1927, 49, 2214.
(18) K. FABISCH, Ztschr. f. analyt. Chem. 1930, 82, 382.
(19) G. RIENÄCKER u. W. SCHIFF, Ztschr. f. analyt. Chem. 1933, 94, 409.
(20) H. FISCHER u. GR. LEOPOLDI, Ztschr. f. analyt. Chem. 1934, 27, 385.
(21) J. TILLMANS und WEIL, Z. U. L. 1929, 57, 515.
(22) B. MENDEL u. J. GOLDSCHNEIDER, Biochem. Ztschr. 1925, 164, 163.
(23) H. J. FUCHS, Biochem. Ztschr. 1930, 217, 405.
(24) W. LUCKENBACH, Z. U. L. 1925, 50, 103.
(25) R. STROHECKER, Z. U. L. 1927, 53, 221.
(26) E. HAUTSCH, Dissertation Frankfurt a. Main, 1930.
(27) J. TILLMANS u. R. STROHECKER, Ztschr. f. analyt. Chem. 1928, 74.
(28) H. FISCHER und GR. LEOPOLDI, Ztschr. f. analyt. Chem. 1936, 107.

Die vorliegende Arbeit wurde im Universitäts-Institut für Nahrungsmittelchemie, Frankfurt a. Main, auf Anregung des derzeitigen Institutsdirektors

Herrn Dr. phil. habil. STROHECKER

unternommen und durchgeführt.

Ich erlaube mir, an dieser Stelle Herrn Dr. R. Strohecker, meinem hochverehrten Lehrer, sowie Herrn Dr. Riffart für die jederzeit bereitwilligst erteilten, wertvollen Ratschläge und das rege Interresse, das sie meiner Arbeit entgegen brachten, meinen herzlichsten Dank zu sagen.

Lebenslauf.

Ich, Joh. Haberstock, wurde am 19. April 1910 in Mainz als Sohn des Gastwirtes Joh. Haberstock und seiner Ehefrau Maria geborene Becker geboren. Ich besuchte zunächst die Handelsrealschule in Mainz bis zur Untersekunda und trat dann in die Oberrealschule daselbst über. Hier bestand ich im Februar 1929 die Reifeprüfung. Anschliessend begann ich meine Lehrzeit als Apothekerpraktikant in der Apotheke zu Mainz-Kostheim und legte im März 1931 in Darmstadt mein Vorexamen ab. Nach zweijähriger Assistentenzeit in der obigen Apotheke begann ich im Sommersemester 1933 das pharmazeutische Studium an der Universität Frankfurt a. Main und bestand das Staatsexamen im April 1935 mit der Note „gut". Nachdem ich anschliessend ein Semester organisch-präperativ in dem pharmazeutischen Institut in Frankfurt a. Main gearbeitet hatte, begann ich im Dezember 1935 am hiesigen Universitäts-Institut für Nahrungsmittelchemie unter Leitung von Herrn Dr. R. Strohecker die vorliegende Arbeit.